



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA QUÍMICA

**ELABORACIÓN DE BIOPOLÍMEROS EMPLEANDO COLÁGENO
DE ESCAMAS DE PESCADO ENRIQUECIDO CON CELULOSA Y
ÓXIDO DE GRAFENO.**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

QUÍMICA

AUTOR (ES): VIVIANA CAROLINA CHONGA AGUALSACA
MARITZA SOLEDAD VEGA RAMIREZ

Riobamba-Ecuador

2024



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA QUÍMICA

**ELABORACIÓN DE BIOPOLÍMEROS EMPLEANDO COLÁGENO
DE ESCAMAS DE PESCADO ENRIQUECIDO CON CELULOSA Y
ÓXIDO DE GRAFENO.**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

QUÍMICA

AUTOR (ES): VIVIANA CAROLINA CHONGA AGUALSACA
MARITZA SOLEDAD VEGA RAMIREZ

DIRECTORA: Ing. GABRIELA VIVIANA TUBON USCA, PhD.

Riobamba-Ecuador

2024

© 2024, Viviana Carolina Chonga Agualsaca & Maritza Soledad Vega Ramirez

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Nosotras, Viviana Carolina Chonga Agualsaca & Maritza Soledad Vega Ramírez, declaramos que el presente Trabajo de Integración Curricular es de nuestra autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en e; documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados

Como autoras asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular, el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 17 de mayo de 2024





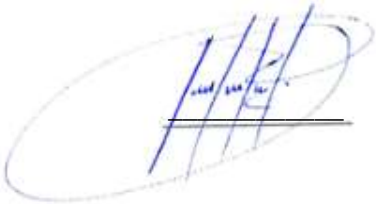
Viviana Carolina Chonga Agualsaca
C.I. 060545666-4



Maritza Soledad Vega Ramirez
C.I. 185009306-1

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA QUÍMICA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto de Investigación, **ELABORACIÓN DE BIOPOLÍMEROS EMPLEANDO COLÁGENO DE ESCAMAS DE PESCADO ENRIQUECIDO CON CELULOSA Y ÓXIDO DE GRAFENO**, realizado por las señoritas: **VIVIANA CAROLINA CHONGA AGUALSACA** y **MARITZA SOLEDAD VEGA RAMIREZ** , ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Robert Alcides Cazar Ramirez, MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2024-05-17
Ing. Gabriela Viviana Tubon Usca, PhD. DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2024-05-17
Ing. Linda Mariuxi Flores Fiallos, MSc. ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2024-05-17

DEDICATORIA

En este trabajo de integración curricular, quiero expresar mi dedicatoria a Dios, quien ha sido mi guía y apoyo a lo largo de mi vida, en los momentos difíciles y en los de alegría, brindándome oportunidades para mi formación y crecimiento personal y profesional. También dedico este trabajo a mis padres, José y Cristina, por ser mi motor, su apoyo incondicional, los valores que me inculcaron, su amor y consejos han sido fundamentales en mi vida. Agradezco a mis hermanos, Mónica, Leslie, Cristofer y Anahí, por su amor incondicional y fortaleza, y a mis sobrinas, Keytie y Lía, por darle felicidad a mi vida.

Viviana

A mi familia, a mis hermanas Gabriela y Verónica por ser mis cómplices en esta batalla, a mi sobrina Alejandra por ser esa niña que cada día te lleva a ser mejor persona con su ejemplo a tan corta edad. A mis tíos Rodrigo, Flavio y Gloria por su apoyo incondicional y consejos. A mi primo Johnny. A Bayron por ser esa persona que un día llego a ser un guía en mi vida. A mi abuelita Soledad por ser como una madre para mí, quien me sabido acoger en su regazo en cada tempestad. Y con mucho amor a mis padres María y Fernando por sus esfuerzos y enseñanzas en este arduo camino que me guía hacia el éxito.

Maritza

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecemos a Dios por habernos bendecido en cada día de nuestras vidas, dándonos sabiduría para poder alcanzar nuestras metas, dando como fruto esta carrera universitaria. Les agradecemos a nuestros padres quienes siempre nos han brindado su apoyo incondicional para poder cumplir todos nuestros objetivos personales y académicos. Ellos son los que con su cariño nos han impulsado siempre a perseguir nuestras y nunca abandonarlas frente a las adversidades. A nuestros tíos, hermanos y sobrinas, quienes supieron brindarnos su tiempo para escucharnos y apoyarnos. Le agradecemos muy profundamente a nuestra directora de tesis, la Ing. Gabriela Viviana Tubon Usca. PhD por su dedicación y paciencia, sin sus palabras y correcciones precisas no habiéramos podido lograr llegar a esta instancia tan anhelada. Finalmente, queremos expresar nuestro agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por proporcionarnos las herramientas que necesitaba para nuestra formación. En especial, deseamos agradecer a la Carrera de Química, donde adquirimos los conocimientos fundamentales que contribuyeron a nuestro desarrollo.

Viviana & Maritza

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Antecedentes.....	2
1.2. Planteamiento del problema.....	3
1.3. Justificación.....	3
1.4. Objetivos de la investigación.....	5
1.4.1. General.....	5
1.4.2. Específicos.....	5

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	6
2.1. Bases teóricas.....	6
2.1.1. <i>Polímeros</i>	6
2.1.1.1. <i>Definición</i>	6
2.1.1.2. <i>Clasificación</i>	6
2.2. Bases conceptuales.....	7
2.2.1. <i>Biopolímero</i>	7
2.2.1.1. <i>Biodegradación</i>	7
2.2.1.2. <i>Caracterización</i>	8
2.2.2. <i>Proteínas</i>	9
2.2.3. <i>Colágeno</i>	9
2.2.3.1. <i>Definición</i>	9
2.2.3.2. <i>Tipos</i>	10
2.2.3.3. <i>Fuentes</i>	11

2.2.3.4.	<i>Estructura</i>	11
2.2.3.5.	<i>Métodos de extracción de colágeno de fuentes marinas</i>	12
2.2.4.	Celulosa	14
2.2.4.1.	<i>Definición</i>	14
2.2.4.2.	<i>Estructura y propiedades</i>	14
2.2.5.	Grafito	15
2.2.5.1.	<i>Definición</i>	15
2.2.6.	Grafeno	15
2.2.6.1.	<i>Definición</i>	15
2.2.6.2.	<i>Óxido de grafeno</i>	15
2.3.	Bases legales	16
2.3.1.	<i>Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2643:2012</i>	16

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	17
3.1.	Planteamiento de las hipótesis	17
3.1.1.	<i>Hipótesis general</i>	17
3.1.2.	<i>Hipótesis específicas</i>	17
3.2.	Identificación de variables	18
3.3.	Operacionalización de variables	18
3.4.	Matriz de consistencia	19
3.5.	Tipo y diseño de investigación	21
3.5.1.	<i>Tipo de investigación</i>	21
3.5.2.	<i>Diseño de investigación</i>	21
3.6.	Unidad de análisis	22
3.7.	Población de estudio	22
3.8.	Tamaño de la muestra	22
3.9.	Selección de muestra	23
3.10.	Técnicas de recolección de datos	24
3.10.1.	<i>Extracción de colágeno</i>	24
3.10.1.1.	<i>Diagrama de flujo para la obtención de colágeno de escamas de pescado</i>	26
3.10.2.	<i>Síntesis de óxido de grafeno</i>	27
3.10.2.1.	<i>Diagrama de flujo para la síntesis del óxido de grafeno</i>	29
3.10.3.	<i>Obtención de la celulosa</i>	30
3.10.3.1.	<i>Diagrama de flujo para la obtención de celulosa</i>	32

3.10.4.	<i>Obtención del biopolímero</i>	33
3.10.4.1.	<i>Diagrama de flujo para la elaboración de biopolímero con celulosa y óxido de grafeno</i>	34
3.10.5.	<i>Caracterización del biopolímero</i>	35

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	37
4.1.	Datos	37
4.1.1.	<i>Ensayos físico -químicos realizados con la materia prima</i>	37
4.1.1.1.	<i>Caracterización física de las escamas de pescado</i>	37
4.1.1.2.	<i>Obtención de colágeno de escamas de pescado</i>	37
4.1.2.	<i>Síntesis de óxido de grafeno</i>	38
4.1.3.	<i>Obtención de celulosa</i>	38
4.1.4.	<i>Pruebas físico-químicas y mecánicas del biopolímero</i>	39
4.1.4.1.	<i>Formulación del biopolímero</i>	39
4.1.4.2.	<i>Formulación del biopolímero con celulosa y óxido de grafeno</i>	39
4.1.5.	<i>Evaluación económica</i>	47
4.1.5.1.	<i>Obtención del colágeno</i>	47
4.1.5.2.	<i>Obtención del óxido de grafeno</i>	48
4.1.5.3.	<i>Obtención de celulosa</i>	48
4.1.5.4.	<i>Elaboración del biopolímero</i>	48
4.2.	Cálculos	49
4.2.1.	<i>Extracción del colágeno</i>	49
4.2.1.1.	<i>Rendimiento de la harina de escamas de pescado</i>	49
4.2.1.2.	<i>Rendimiento del colágeno</i>	49
4.2.2.	<i>Síntesis del óxido de grafito</i>	49
4.2.2.1.	<i>Rendimiento del óxido de grafito</i>	49
4.2.2.2.	<i>Rendimiento del óxido de grafeno</i>	50
4.2.3.	<i>Extracción de la celulosa</i>	50
4.2.3.1.	<i>Rendimiento de la celulosa</i>	50
4.2.4.	<i>Pruebas con el biopolímero</i>	51
4.2.4.1.	<i>Porcentaje de humedad</i>	51
4.2.4.2.	<i>Porcentaje de solubilidad</i>	51
4.2.4.3.	<i>Porcentaje de permeabilidad</i>	51
4.2.4.4.	<i>Porcentaje de biodegradabilidad</i>	52

4.3.	Resultados	52
4.3.1.	Extracción del colágeno	52
4.3.1.1.	<i>Rendimiento de la harina de escamas de pescado</i>	52
4.3.1.2.	<i>Rendimiento del colágeno</i>	52
4.3.1.3.	<i>Espectroscopía IR del colágeno</i>	53
4.3.2.	Síntesis del óxido de grafeno	54
4.3.2.1.	<i>Rendimiento de óxido de grafeno</i>	54
4.3.2.2.	<i>Rendimiento de óxido de grafeno</i>	55
4.3.2.3.	<i>Espectroscopía UV-Visible del óxido de grafeno</i>	56
4.3.2.4.	<i>Espectroscopía IR del óxido de grafeno y grafito</i>	56
4.3.2.5.	<i>Rendimiento de la celulosa</i>	58
4.3.2.6.	<i>Espectroscopía IR de la celulosa</i>	59
4.3.3.	Ensayos con el biopolímero	59
4.3.3.1.	<i>Análisis sensorial realizado</i>	59
4.3.3.2.	<i>Promedio del espesor del biopolímero</i>	60
4.3.3.3.	<i>Promedio de humedad del biopolímero</i>	61
4.3.3.4.	<i>Promedio de solubilidad del biopolímero</i>	61
4.3.3.5.	<i>Promedio de la permeabilidad del bioplástico</i>	62
4.3.3.6.	<i>Biodegradabilidad del biopolímero</i>	63
4.3.3.7.	<i>Pruebas de tracción con el biopolímero</i>	64
4.3.3.8.	<i>Evaluación de variabilidad de un factor de las pruebas de tracción del biopolímero</i>	65
4.3.3.9.	<i>Espectroscopía IR de comparación de los biopolímeros obtenidos</i>	73
4.3.3.10.	<i>Análisis morfológico por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM) de los biopolímeros obtenidos</i>	74
4.3.4.	Evaluación económica del biopolímero	77
4.3.4.1.	<i>Obtención del colágeno</i>	77
4.3.4.2.	<i>Obtención del óxido de grafeno</i>	78
4.3.4.3.	<i>Obtención de la celulosa</i>	79
4.3.4.4.	<i>Elaboración del biopolímero</i>	79
4.4.	Prueba de hipótesis	80
4.4.1.	Prueba de hipótesis general	80
4.4.2.	Prueba de hipótesis específica 1	80
4.4.3.	Prueba de hipótesis específica 2	80
4.4.4.	Prueba de hipótesis específica 3	80
4.4.5.	Prueba de hipótesis específica 4	81

4.4.6.	<i>Prueba de hipótesis específica 5</i>	81
--------	---	----

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	82
5.1.	Conclusiones	82
5.2.	Recomendaciones	83

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3-1:	Identificación de variables.....	18
Tabla 3-2:	Operacionalización de variables	18
Tabla 3-3:	Matriz de consistencia	19
Tabla 3-4:	Diseño experimental totalmente al azar (DCA) para la elaboración del biopolímero con celulosa y óxido de grafeno	22
Tabla 3-5:	Técnica para la extracción de colágeno de escamas de pescado	24
Tabla 3-6:	Técnica para la síntesis del óxido de grafeno	27
Tabla 3-7:	Técnica para la obtención de celulosa de papel reciclado.....	30
Tabla 3-8:	Técnica para la obtención del biopolímero	33
Tabla 3-9:	Caracterización del biopolímero.....	35
Tabla 4-1:	Evaluación de las escamas.....	37
Tabla 4-2:	Extracción de colágeno	38
Tabla 4-3:	Obtención de óxido de grafeno.....	38
Tabla 4-4:	Obtención de celulosa	38
Tabla 4-5:	Biopolímero base	39
Tabla 4-6:	Formulaciones del biopolímero con celulosa y óxido de grafeno	40
Tabla 4-7:	Medición de espesor de los biopolímeros.....	41
Tabla 4-8:	Ensayo de humedad de los biopolímeros.....	43
Tabla 4-9:	Ensayo de solubilidad de los biopolímeros.....	43
Tabla 4-10:	Ensayo de permeabilidad de los biopolímeros.....	45
Tabla 4-11:	Áreas de la biodegradabilidad en el ambiente	46
Tabla 4-12:	Áreas de la biodegradabilidad en el suelo.....	46
Tabla 4-13:	Áreas de la biodegradabilidad en el agua	47
Tabla 4-14:	Suministros empleados.....	47
Tabla 4-15:	Suministros empleados.....	48
Tabla 4-16:	Suministros empleados.....	48
Tabla 4-17:	Suministros empleados.....	48
Tabla 4-18:	Resultados del rendimiento de la harina de escamas	52
Tabla 4-19:	Resultados del rendimiento de colágeno	53
Tabla 4-20:	Rendimiento del óxido de grafito	55
Tabla 4-21:	Rendimiento del óxido de grafeno.....	55
Tabla 4-22:	Rendimiento del óxido de grafito	58
Tabla 4-23:	Análisis sensorial	60

Tabla 4-24:	Resultados promediados del espesor	60
Tabla 4-25:	Resultados promediados de la humedad	61
Tabla 4-26:	Resultados promediados de la solubilidad	61
Tabla 4-27:	Resultados promediados del ensayo de permeabilidad	62
Tabla 4-28:	Porcentaje de biodegradabilidad en tres medios	63
Tabla 4-29:	Pruebas de tracción del biopolímero.....	64
Tabla 4-30:	Estudio de variabilidad para la carga máxima	66
Tabla 4-31:	Prueba Tukey para la carga máxima.....	66
Tabla 4-32:	Estudio de variabilidad para el desplazamiento máximo	67
Tabla 4-33:	Prueba Tukey para el desplazamiento máximo.....	68
Tabla 4-34:	Estudio de variabilidad para el esfuerzo máximo	69
Tabla 4-35:	Prueba Tukey para varianza del esfuerzo máximo	69
Tabla 4-36:	Estudio de variabilidad para la máxima deformación	70
Tabla 4-37:	Prueba Tukey para la máxima deformación	70
Tabla 4-38:	Estudio de variabilidad para la rotura de carga.....	71
Tabla 4-45:	Costos de los materiales utilizados para obtención de colágeno	77
Tabla 4-46:	Costos de la extracción de colágeno	77
Tabla 4-47:	Costos de los materiales utilizados en la síntesis de óxido de grafeno.....	78
Tabla 4-48:	Gastos relacionados con la elaboración de óxido de grafeno	78
Tabla 4-49:	Costos de los materiales utilizados en la obtención de celulosa	79
Tabla 4-50:	Costos de obtención de celulosa.....	79
Tabla 4-51:	Costos de producción del biopolímero	79

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 2-1:	Estructura del colágeno	12
Ilustración 2-2:	Estructura química de la celulosa.	14
Ilustración 2-3:	Reducción de grafito a óxido de grafeno (GO).....	16
Ilustración 3-1:	Extracción de colágeno de escamas de pescado	26
Ilustración 3-2:	Extracción de colágeno de escamas de pescado	29
Ilustración 3-3:	Obtención de celulosa a partir de papel reciclado	32
Ilustración 3-4:	Obtención de biopolímero	34
Ilustración 4-1:	Espectro FT-IR del colágeno.....	54
Ilustración 4-2:	UV-Visible del óxido de grafeno	56
Ilustración 4-3:	Espectro FT-IR del óxido de grafeno	57
Ilustración 4-4:	Espectro FT-IR del grafito	58
Ilustración 4-5:	Espectro FT-IR de la celulosa	59
Ilustración 4-6:	Ensayos de tracción de los biopolímeros con celulosa y oxido de grafeno	65
Ilustración 4-7:	Resultados del análisis Tukey para la carga máxima.....	67
Ilustración 4-8:	Resultados del análisis Tukey para el desplazamiento máximo.....	68
Ilustración 4-9:	Resultados del análisis Tukey para el esfuerzo máximo.....	70
Ilustración 4-10:	Resultados del análisis Tukey para la máxima deformación	71
Ilustración 4-11:	Resultados del análisis Tukey para la rotura de carga	72
Ilustración 4-12:	Espectroscopía IR de los biopolímeros: a) TBC-0, b) TBC-1, TBC-2, TBC-3, c) TBC-4, TBC-5 y TBC-6.....	73
Ilustración 4-13:	SEM de los biopolímeros: a) TBC-0, b) TBC-1, c) TBC-2, d) TBC-3, e) TBC-4, f) TBC-5, g) TBC-6 (500 μm).....	75
Ilustración 4-14:	SEM vista transversal de los biopolímeros: a) TBC-0, b) TBC-1, c) TBC-2, d) TBC-3, e) TBC-4, f) TBC-5, g) TBC-6 (20 μm).....	76
Ilustración 4-15:	Porcentaje de degradabilidad alcanzado	81

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** PROCESAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA PARA LA OBTENCION DE COLÁGENO
- ANEXO B:** PROCESAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA PARA LA OBTENCION DE COLÁGENO
- ANEXO C:** EXTRACCIÓN DE COLÁGENO DE LA HARINA DE PESCADO
- ANEXO D:** EXTRACCIÓN DE COLÁGENO DE LA HARINA DE PESCADO
- ANEXO E:** PROCESAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA PARA LA EXTRACCIÓN DE LA CELULOSA
- ANEXO F:** PROCESAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA PARA LA EXTRACCIÓN DE LA CELULOSA
- ANEXO G:** SÍNTESIS DEL ÓXIDO DE GRAFENO
- ANEXO H:** ELABORACIÓN DEL BIOPOLÍMERO
- ANEXO I:** ENSAYOS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL BIOPOLÍMERO
- ANEXO J:** ENSAYOS DE TRACCIÓN
- ANEXO K:** PRUEBAS DE BIODEGRADABILIDAD

RESUMEN

La problemática generada por el manejo inadecuado de residuos sólidos y su persistencia en el medio ambiente ha impulsado la investigación hacia el desarrollo de nuevas alternativas sostenibles, que buscan transformar los desechos en nuevos materiales autosustentables, por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue elaborar biopolímeros de colágeno de escamas de pescado enriquecido con celulosa y óxido de grafeno. La metodología implementada constó de tres fases distintas. En la primera fase, se llevó a cabo la obtención de la materia prima. El colágeno se extrajo mediante el método de la hidrólisis enzimática con Rennina al 15%, mientras que la celulosa de papel se obtuvo a través de un tratamiento alcalino con hidróxido de sodio (NaOH) al 7%. Por otro lado, el óxido de grafeno se sintetizó utilizando el método de oxidación de Hummers modificado. En la segunda fase, se estableció la matriz de colágeno y las seis formulaciones de los tratamientos mediante un Diseño Completamente al Azar (DCA). Finalmente, en la tercera fase, se caracterizaron los biopolímeros mediante pruebas físico-químicas como la tracción, solubilidad, permeabilidad, humedad y biodegradabilidad. Además, mediante técnicas microscópicas (SEM) se comprobó la presencia de estructuras de celulosa, colágeno y óxido de grafeno con diámetros entre 20 a 500 μm y la espectroscopía (FT-IR) confirmó la presencia de los grupos funcionales propios de los elementos antes mencionados en los biopolímeros. Los resultados obtenidos demostraron que los seis tratamientos estudiados presentan buenas propiedades, destacando con buenas características de tracción los biopolímeros TBC-2 y TBC-3. En ese contexto, se concluye que la adición de la celulosa y óxido de grafeno permite mejorar las características físico químicas de los biopolímeros en estudio.

Palabras clave: <BIOPOLÍMERO>, <COLÁGENO>, <RESIDUOS SÓLIDOS>, <HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA >, <TRACCIÓN>, <BIODEGRADABILIDAD>.

0589-DBRA-UPT-2024



ABSTRACT

The problem generated by the inadequate management of solid waste and its persistence in the environment has prompted research into the development of new sustainable alternatives that seek to transform waste into new self-sustainable materials; therefore, the objective of this research was to elaborate biopolymers from fish scale collagen enriched with cellulose and graphene oxide. The methodology implemented consisted of three distinct phases. In the first phase, the raw material was obtained. Collagen was extracted by the enzymatic hydrolysis method with 15% Rennin, while paper cellulose was obtained through an alkaline treatment with 7% sodium hydroxide (NaOH). On the other hand, graphene oxide was synthesized using the modified Hummers oxidation method. The collagen matrix and the six treatment formulations were established in the second phase using a Completely Randomized Design (CRD). Finally, in the third phase, the biopolymers were characterized by physical-chemical tests such as traction, solubility, permeability, humidity, and biodegradability. In addition, microscopic techniques (SEM) showed the presence of cellulose, collagen, and graphene oxide structures with diameters between 20 and 500 um and spectroscopy (FT-IR) confirmed the presence of the functional groups of the elements in the biopolymers. The results showed that the six treatments studied have good properties, with the TBC-2 and TBC-3 biopolymers standing out with good tensile characteristics. In this context, it is concluded that adding cellulose and graphene oxide improves the physical and chemical characteristics of the biopolymers under study.

Keywords: <BIOPOLYMER>, <COLLAGEN>, <SOLID WASTE>, <ENZYMATIC HYDROLYSIS>, <TRACTION>, <BIODEGRADABILITY>.



Lcdo. Edison Renato Ruiz Lopez, Mgs
060395704-4

INTRODUCCIÓN

Actualmente, en el Ecuador se genera 13.652,5 toneladas de residuos sólidos al día. De este total el 85.2% no son recolectados de manera selectiva en los que encontramos papel, plásticos, vidrios, escombros, restos orgánicos entre otros. La producción diaria y descontrolada de basura provoca daños tanto al ecosistema deteriorando el aire, suelo y agua como al ser humano con brotes infecciosos (Cabrera, 2012, pág. 1.; Flores, 2009, pág. 121; Aila-Suárez et al., 2013, pág. 102; INEC, 2022, pág.21).

En consecuencia, en los últimos años se busca combatir el impacto que generan los residuos a través de nuevas alternativas ecológicas, como el desarrollo de nuevos polímeros degradables que en su estructura contengan materia prima de origen natural como el almidón, celulosa, colágeno, entre otros, que ofrecen una ventaja frente a los materiales sintéticos gracias a su gran biocompatibilidad, baja antigenicidad, características renovables y económicamente aplicables (Valero et al., 2013, pág. 337; Rodríguez et al., 2020, pág.109).

Dentro de los desechos sólidos se encuentran grandes volúmenes de residuos orgánicos, presentes en la mayoría de mercados que pueden ser utilizados como materia prima con un correcto manejo y ser llevados a procesos industriales que brinden una protección ambiental. Entre estos desechos sin mayor uso encontramos los productos derivados de origen animal no destinados al consumo humano como las escamas de pescado una fuente rica en colágeno con propiedades aptas para ser materia prima de un biopolímero.

La presente investigación busca darles una utilidad a los residuos de pescado (escamas) a través de su extracción de colágeno el cual está compuesto por un conjunto de tres cadenas polipeptídicas, siendo el responsable de la rigidez y la resistencia de las fibras para emplear en el desarrollo de biopolímeros mejorando sus características con la adición de nano materiales como la celulosa que es un biopolímero natural, de bajo costo, biocompatible y biodegradable, del mismo modo el óxido de grafeno presenta características hidrofílicas y tiene una gran influencia a mejorar las propiedades estructurales, mecánicas y electrónicas (Rosas y Silva 2016, pág. 53; Pang et al. 2013, pág. 1271; Prockop y Guzmán, 2019, pág. 53).

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Antecedentes

Alzate et al (2018, pág. 103), en su investigación desarrollaron un bioplástico a partir de colágeno parcialmente hidrolizado de escamas de pescado del bocachico reforzado con cascarilla de arroz a diferentes concentraciones. Obteniendo un bioplástico con características de elasticidad y mayor resistencia a concentraciones de 3% y 10%. En esta investigación se utilizó para la elaboración del biopolímero 100 gr de coloide gel obtenido, 6% de glicerina como plastificante, una solución de ácido acético al 5% y la cascarilla de arroz. La temperatura óptima para el proceso fue de 80°C.

Acosta y Candela (2020, págs. 26-58), realizaron la obtención, caracterización y propiedades fisicoquímicas del bioplástico de colágeno de los residuos de pescado. Iniciaron con una fase preliminar de estudio y recolección de los residuos de pescado en la zona, obteniendo 40 kg y 1kg para realizar su posterior estudio, además del colágeno, en su elaboración utilizaron glicerina, ácido acético y carbonato de sodio consiguiendo resultados en la dosis D1-(10g-10g) con un mayor porcentaje de alargamiento, resistencia y solubilidad a lapso de 5 días, la cual se encontraba constituida por 10 g de almidón de yuca, 3 ml de glicerina, 10 g de colágeno de residuos de pescado, 2 ml de ácido acético y 1 g de carbonato de sodio (Acosta y Candela, 2020, págs. 26-58).

Menezes et al (2020, págs. 1-16), en esta investigación desarrollaron películas superparamagnéticas basadas en polímeros de matrices como el quitosano adquirido de sigma-Aldrich, celulosa bacteriana nano fibrilada y colágeno extraído de las pieles de tilapia, reforzados con óxido de hierro (SPIONs) con la adición de polietilenimina por el método de sonoquímica. Evaluaron la morfología, propiedades térmicas, dieléctricas y magnéticas, además en su aplicación como sustratos de antenas microchip. Las películas obtenidas tuvieron características de una buena dispersión y homogeneidad que fueron caracterizados por técnicas como SEM, FTIR y XRD, que mostraron que las películas tienen las características superparamagnéticas necesarias para las antenas.

Sánchez et al (2022, pág. 119), desarrollaron biopolímeros en base a compuestos bioactivos con diferentes proporciones: almidón modificado de yuca de 5 a 12 %, colágeno de escamas de pescado de 10 a 40 %, aceite esencial de limón de 0,5 a 1,5 % y una temperatura de gelatinización de 70 a 80 °C. Los resultados obtenidos de los biopolímeros fue el de almidón modificado de yuca

que tuvo mayor impacto en las propiedades mecánicas y combinada con el colágeno sirve como potencial para envases biodegradables, además el aceite esencial tiene una gran influencia en la elongación y módulo de Young.

Contreras et al (2023, págs. 89-97), en este estudio realizaron la extracción y caracterización del colágeno de residuos de pescado de agua dulce *Prochilodus magdalenae* con el fin de aplicar en películas biodegradables. Utilizaron piel, escamas, aletas y cabezas para obtener el colágeno, además aplicaron hidroxipropil metilcelulosa para elaborar las películas. Las biopelículas denotaron que a mayor cantidad de colágeno mejoran las características tales como mayor resistencia, menos rigidez y deformable. Con relación a la degradación observaron dos etapas típicas de degradación térmica y las micrografías revelaron que ganaron mayor suavidad superficial en la presencia de colágeno.

1.2. Planteamiento del problema

La contaminación generada por residuos sólidos, se considera una preocupación ambiental de gran magnitud, incluye los desechos orgánicos en los que se encuentran los restos de pescado como cabezas, espinas, escamas y vísceras. (Espinoza y Llanez, 2018, pág. 1). En la ciudad de Riobamba, en la Empresa Pública Municipal Mercado de Productores Agrícolas “San Pedro de Riobamba” (EP-EMMPA) existe un inadecuado manejo de residuos sólidos orgánicos, los cuales han sido depositados durante años en el basurero a cielo abierto de Porlón, lo que provoca impactos negativos en los ecosistemas. Esta gestión inapropiada genera problemas tanto sociales como ambientales que amenazan el medio ambiente y la salud humana, como resultado las enfermedades transmitidas por vectores, contaminación del aire, agua, suelo, emisión de gases de efecto invernadero y producción de lixiviados (Brito et al., 2016, págs. 77-79). Por otra parte, y no menos importante se encuentran los residuos inorgánicos, como el papel que se genera en grandes cantidades diariamente, provocando un desequilibrio en el ambiente. Ante esta realidad se busca transformar los residuos de pescado, en este caso las escamas y el papel en una alternativa sostenible.

1.3. Justificación

En la actualidad, las actividades diarias del comercio generan grandes cantidades de residuos sólidos, produciendo un gran foco de contaminación y malos olores al no ser tratados adecuadamente. Una parte minoritaria de estos son de origen orgánico en los que se encuentra las escamas de pescado, fuente rica en proteína que pueden recuperarse, dándole un valor agregado

a los residuos, la proteína principal presente en estos subproductos es el colágeno (Pati et al; 2010, pág. 3737).

El colágeno es la proteína más abundante de origen animal, se caracteriza por estar formado por tres cadenas polipeptídicas que contienen alrededor de 1000 aminoácidos cada una, organizadas en una estructura helicoidal. Esta estructura es la responsable de la rigidez y la resistencia de las fibras. Debido a estas propiedades, el colágeno se ha utilizado en la elaboración de alimentos funcionales, materiales de empaque biodegradable, películas fotográficas, productos de cosmetología y diversas aplicaciones en los campos de alimentación y medicina (Prockop y Guzmán, 2019, págs. 53).

Con el propósito de mejorar las propiedades físico, químicas y mecánicas se puede adicionar materiales y nanomateriales externos sintetizados; tales como, celulosa ser es un biopolímero natural, de hecho, el más abundante en la tierra, considerado uno de los recursos poliméricos más prometedores. Tiene muchas ventajas, como el bajo costo, la biocompatibilidad y la biodegradabilidad que no solo permiten su uso en muebles, ropa, empaques, papel y productos médicos en nuestra vida diaria, sino que también le dan potencial en numerosas aplicaciones como materiales de base biológica, como fibras, películas, envolturas de alimentos y membranas. Por lo tanto, la utilización eficaz de la celulosa reducirá el consumo de nuestros limitados recursos fósiles para proteger el medio ambiente, a través de la utilización del papel reciclado (Pang et al., 2013, págs. 1271-1272).

Del mismo modo, el óxido de grafeno al presentar características hidrofílicas debido a sus grupos funcionales oxigenados, que permite retener las moléculas de agua absorbidas entre las láminas de óxido de grafeno, tiene una gran influencia a mejorar las propiedades estructurales, mecánicas y electrónicas (Rosas y Silva, 2016, págs. 51-55).

Esta investigación propone evaluar el desarrollo de películas biodegradables a partir de escamas de pescado y materiales como la celulosa y el óxido de grafeno, orientando la sostenibilidad ambiental y el aprovechamiento de residuos orgánicos, con el fin de transformar desechos orgánicos en nuevos materiales autosustentables.

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. *General*

- Elaborar un biopolímero empleando colágeno de escamas de pescado enriquecido con celulosa y óxido de grafeno.

1.4.2. *Específicos*

- Sintetizar colágeno a partir del método hidrólisis enzimática que será parte de la matriz del biopolímero.
- Establecer 6 formulaciones diferentes empleando materiales y nanomateriales como celulosa y óxido de grafeno evaluando sus propiedades mecánicas.
- Caracterizar la morfología y estructura química de los biopolímeros obtenidos mediante técnicas espectroscópicas y microscópicas como FT-IR y SEM.
- Determinar el tiempo de degradación de los biopolímeros obtenidos.
- Efectuar un estudio ANOVA para escoger el tratamiento del biopolímero que presente mejores propiedades mecánicas.
- Estimar el costo de producción del biopolímero.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

2.1. Bases teóricas

2.1.1. *Polímeros*

2.1.1.1. *Definición*

Los polímeros son macromoléculas formadas por la repetición de unidades estructurales llamadas monómeros. Tienen propiedades únicas según el tipo de moléculas unidas y cómo se unen, además algunos polímeros se pueden doblar y estirar. Se encuentran en una gran variedad de materiales y productos que utilizamos en nuestra vida cotidiana (Bradford, 2013, pág.1).

El término polímero suele asociarse comúnmente con los plásticos, que son polímeros sintéticos, no obstante, existen polímeros naturales como el caucho y la madera que son compuestos por el hidrocarburo simple-isopreno y los materiales biopoliméricos, como el ADN y las proteínas que son compuestas de aminoácidos y los ácidos nucleicos (Bradford, 2013, pág.1).

2.1.1.2. *Clasificación*

- Termoplásticos

Los termoplásticos son polímeros que se funden a elevadas temperaturas y se transforman en fluidos maleables, manteniendo su forma deseada al enfriarse. Los polímeros amorfos termoplásticos deben tener una temperatura de transición vítrea superior a la temperatura ambiente, dado que a esta temperatura se vuelven rígidos y frágiles. Además, constituyen la clase más importante y comercialmente útil de polímeros sintéticos. Las cadenas termoplásticas no se enredan, por tanto, se pueden remodelar después de la fundición. Por lo general, se aplica calor y presión a estos materiales para permitirles dar una forma (Núñez, 2014, pág. 4).

- Elastómeros

Los elastómeros tienen cadenas que poseen mucha flexibilidad, es decir, libertad de movimiento molecular. Estos polímeros tienen la capacidad de estirarse varias veces su longitud y volver a su

forma original, además a temperatura ambiente son blandos y elásticos. En comparación con los polímeros amorfos, los elastómeros tienen una temperatura de transición vítrea inferior a la temperatura ambiente y son utilizados por sus excelentes propiedades de flexibilidad (Núñez, 2014, págs. 4-5).

- Termoestables.

Los polímeros termoestables son aquellos materiales que no pueden fluir bajo el efecto de la temperatura. Consisten en largas cadenas de moléculas unidas entre sí en una estructura tridimensional. Estas moléculas presentan fuertes enlaces covalentes y suelen ser resinas muy duras que cuando se exponen a altas temperaturas, promueven la degradación química (carbonización) del polímero. Son duros y quebradizos a temperatura ambiente (Núñez, 2014, págs. 4-5).

2.2. Bases conceptuales

2.2.1. Biopolímero

Los biopolímeros sintetizados por organismos vivos realizan naturalmente varias funciones biológicas importantes, como la preservación del material genético que realizan los ácidos nucleicos, estabilidad celular y metabólica lo realizan las proteínas y almacenamiento de energía los polisacáridos. Muchos materiales diferentes con propiedades fisicoquímicas son utilizados en una variedad de industrias, incluidas la salud, alimentos, productos farmacéuticos y plásticos (Rodríguez et al., 2020, pág. 108).

Los biopolímeros son conocidos como polímeros biobasados y su principal contraste con los polímeros comunes son que se obtienen de fuentes renovables y naturales. Estas características les confieren ventajas sobre los materiales sintéticos debido a que son biocompatibles, biodegradables, presentan baja antigenicidad y renovabilidad. Normalmente, proceden de residuos sólidos, de celulosa, almidón, colágeno, entre otros materiales (Rodríguez et al. 2020, pág. 109; págs.).

2.2.1.1. Biodegradación

La biodegradación es el proceso mediante el cual la materia orgánica se descompone con la presencia de microorganismos, como bacterias y hongos, generando cambios significativos en la estructura química de los polímeros degradados, puede suceder tanto en condiciones aeróbicas

como anaeróbicas. Este proceso considera acciones químicas, biológicas y mecánicas que llevan a cabo una descomposición limpia dentro de un periodo de tiempo determinado, en moléculas simples como el dióxido de carbono y agua (Ruiz et al., 2013, pág. 48; Subach, 1997, págs. 32-33).

La biodegradación del polímero es afectada por condiciones ambientales, tales como la cantidad y tipo de microbio presente, temperatura, pH, humedad, oxígeno, luz solar, lluvia, erosión eólica, metales, salinidad, estructura y peso molecular (Poznyak, 2019, pág. 355).

2.2.1.2. Caracterización

- Espesor

Esta característica se puede determinar mediante el uso de un micrómetro digital de alta resolución (0,001 mm). El grosor se puede medir tomando diferentes puntos del biopolímero (Capitani et al., 2016, pág. 1278; Rostini et al., 2019, pág. 1744).

- Transparencia

La medida de transparencia indica el nivel de claridad de un material marcado por la capacidad de transmitir la luz, esta medida se puede determinar haciendo uso del espectrofotómetro a una longitud de onda de 550 o 600 nm (Capitani et al., 2016, pág. 1279; Rostini et al., 2019, pág. 1744).

- Solubilidad en el agua

La solubilidad es la capacidad que tiene un bioplástico o biopolímero de rechazar el agua, esta característica se considera de gran importancia, dado que, determina la resistencia al agua y la humedad que este deba tener para mejorar su integridad como material (Yagos, 2022, pág. 44).

- Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad del vapor de agua se refiere a la cantidad de vapor de agua que atraviesa un material durante un tiempo determinado, considerando la diferencia de presión de vapor de agua entre dos superficies específicas y el área del material. Dicha propiedad se evalúa mediante parámetros específicos de temperatura y humedad, puesto que estas condiciones pueden influir en la capacidad de un material para permitir el paso del vapor de agua (Escobar et al., 2011, pág. 34).

La medición de la permeabilidad al vapor de agua se lleva a cabo mediante métodos gravimétricos estándar, como la norma ASTM E96/E96M-16. Este proceso implica el uso de cámaras especializadas que controlan varios parámetros clave, como la humedad relativa interna y externa. Para la humedad relativa interna se establece un valor del 0%, mientras que, para la humedad relativa externa se ajusta a un valor del 100%. Además, se mantiene una temperatura constante de 23 °C. Cabe recalcar que, los resultados de estas pruebas pueden variar de acuerdo al tipo de material. Por lo tanto, las condiciones deben seleccionarse de acuerdo con las aplicaciones prácticas que se les darán al material (Carballo y Martínez, 2010, pág. 46-51; Trejo, Aragon y Miranda, 2001, pág. 2).

- Ensayos de tracción

Este tipo de ensayos permite medir las características mecánicas de los materiales como la carga, la deformación, el esfuerzo, el alargamiento, entre otros, mediante la resistencia al tirón máximo que puede lograr el biopolímero antes de romperse. La medición de estos ensayos se realiza mediante la aplicación de equipos especializados (Capitani et al., 2016, pág. 1279; Rostini et al., 2019, pág. 1744).

2.2.2. Proteínas

Las proteínas son moléculas biológicas compuestas principalmente de carbono, hidrogeno, oxígeno y nitrógeno, y en ciertos casos pueden contener azufre, fosforo, hierro, magnesio, cobre y otros elementos. Estas moléculas se forman a partir de unidades más pequeñas conocidas como aminoácidos, los cuales actúan como monómeros de las proteínas. Los aminoácidos se unen por enlaces peptídicos, cuando se unen pocos aminoácidos forman un péptido y si el número de aminoácidos no es mayor de 10, se denomina oligopéptido, si es superior a 10 se llama polipéptido y si el número supera a 50 aminoácidos se considera una proteína (Luque, 2011, pág.1; Pennacchiotti, 1998, págs. 11-15).

2.2.3. Colágeno

2.2.3.1. Definición

La proteína más abundante del cuerpo humano es el colágeno, además constituye aproximadamente el 30% de todas las proteínas presentes en los animales. Debido a su bajo peso molecular tiene una rápida absorción y puede ser detectado en el flujo sanguíneo después de ser ingerido. Es el componente principal del tejido conectivo del cuerpo, presente en músculos,

dientes, huesos y piel. Su concentración es particularmente alta en los tejidos ligados a la piel, huesos, así como el tejido intersticial en la mayoría de los órganos. Esta presencia es esencial para la estabilidad de los tejidos y órganos contribuyendo al mantenimiento de su estructura e integridad (Muyonga et al., 2004, págs. 81- 82; Paz-Lugo, 2016, pág. 3).

El colágeno está compuesto por tres cadenas de aminoácidos entrelazadas en una triple hélice, lo que le permite una mayor resistencia mecánica y capacidad de retención de humedad. Su principal función es mantener la estructura de los tejidos animales, mejorar la fuerza, resistencia y flexibilidad de los tejidos. En cuanto al colágeno de diferentes tipos de pescado, varias investigaciones demostraron que la mayoría de los colágenos de fuentes marinas consisten en dos variantes de cadena α , que normalmente se designan como $\alpha 1$ y $\alpha 2$. Estas variantes de cadena α , aunque tienen aproximadamente el mismo peso molecular (95.000 Da), pueden separarse por la separación de proteínas (SDS PAGE) debido a su diferente afinidad por el SDS (Gelse et al., 2003, pág. 1534; Muyonga et al., 2004, págs. 81- 82).

2.2.3.2. Tipos

Existen 19 clases conocidas de colágeno, las cuales se designan como tipos I a XIX. Sin embargo, hay otros artículos que discuten 26 tipos genéticamente diferentes de colágeno que difieren en su complejidad y la diversidad de su estructura esencial. Cada uno de estos tipos de colágeno se encuentra en diferentes zonas del cuerpo y poseen propiedades específicas. El grupo de colágeno más abundante, que representa aproximadamente el 90% del total, son los colágenos fibrilares, incluidos los tipos I, II, III, V y XI (Gelse et al., 2003, pág. 1534; Paz-Lugo, 2016, pag. 30).

El colágeno tipo I es la proteína más común y ampliamente estudiada, representando más del 90% de las sustancias orgánicas en los huesos que son piel, tendones, ligamentos, córnea y muchos tejidos conectivos. Su función principal es proporcionar rigidez y tracción, especialmente en tendones, huesos y la mayoría de los órganos. Además, determina las propiedades biomecánicas como la carga, rigidez torsional y resistencia a la tracción (Gelse et al., 2003, pág. 1534; Paz-Lugo, 2016, pag. 30).

En cuanto al colágeno tipo II, se encuentra principalmente en cartílago, vítreo y núcleo pulposo, además es el componente principal del cartílago hialino y determina las propiedades biomecánicas del colágeno tipo I. Por otra parte, el colágeno tipo III es un importante material de construcción del cuerpo humano, dado que es parte de las fibras reticulares en tejidos intersticiales como pulmón, hígado, dermis y el bazo. Los tipos V y XI se consideran parte del subgrupo de colágenos fibrilares ya que se mezclan con los tipos de colágenos mencionados anteriormente y forman

condiciones específicas, es el caso de la unión del colágeno tipo V que se combina con los tipos de colágeno I y III para ayudar a la matriz orgánica de huesos, hígado, pulmones, placenta y córnea (Gelse et al., 2003, pág. 1534; Paz-Lugo, 2016, pag. 21).

Otra familia del colágeno comprende los tipos IX, XII, XIV, XIX, XX y XXI, que se encuentran principalmente en el cartílago, la córnea y humor vítreo en el tipo IX; los ligamentos y tendones en el XII; dermis, paredes de vasos sanguíneos, placenta, pulmones e hígado en el XVI; epitelio corneal, piel embrionaria, cartílago y tendones en el XX; pared de vasos sanguíneos en el tipo XXI. Hay otros tipos de colágeno, como el VI, llamados microfibrilar, que se encuentran en la dermis, cartílago, placenta, pulmones, paredes de los vasos sanguíneos y los discos intervertebral. El tipo IV se encuentra en las membranas basales, el tipo VII que es de tipo anclaje especialmente en la piel, mucosa oral, cuello uterino y las uniones dermoepidérmicas (Paz-Lugo, 2016, pág. 31).

2.2.3.3. Fuentes

El colágeno se extrae principalmente de fuentes bovinas y porcinas, sin embargo, en la última década, la comunidad científica ha estado buscando nuevas fuentes debido al ostracismo relacionado con creencias religiosas y enfermedades del ganado, como brotes de encefalopatía esponjiforme bovina (EEB) y fiebre aftosa, enfermedad transmisible del ganado que puede afectar a los seres humanos (Potaros et al., 2009, pág. 585).

Últimamente, ha surgido mayor interés en el colágeno obtenido de fuentes marinas, como el pescado, debido a que estas fuentes suelen contener una mayor cantidad de colágeno y se consideran una fuente más segura en comparación con otros animales. El colágeno de origen bovino y marino son los que actualmente se oferta en el mercado. El primero es producido y vendido por laboratorios, el segundo principalmente importado de Alemania, Japón, Holanda, Francia y Canadá. En el proceso del fileteado del pescado se generan subproductos como la piel, huesos y escamas, los cuales tienen un impacto significativo en el medio ambiente, por tanto, se están llevando a cabo estudios para obtener colágeno a partir de diferentes especies de peces, con el objetivo de aprovechar al máximo estos desechos y reducir el impacto ambiental (Serrano, 2011, pág. 2; Quintero y Zapata, 2017, pág. 110).

2.2.3.4. Estructura

El colágeno es el principal componente de los tejidos animales y forma parte de la familia de las proteínas fibrosas, cuya función principal es la estructura y soporte celular. La molécula de colágeno consta de tres cadenas polipeptídicas llamadas cadenas α , dos cadenas α idénticas

denominadas $\alpha 1$ y una cadena alfa diferente $\alpha 2$ que se enrollan en sí mismo para formar una supercadena de 300 nm de longitud, 1.5 nm de diámetro y un peso molecular de 300 kDa (Mathews, Holde y Ahern, 2002, pág. 194).

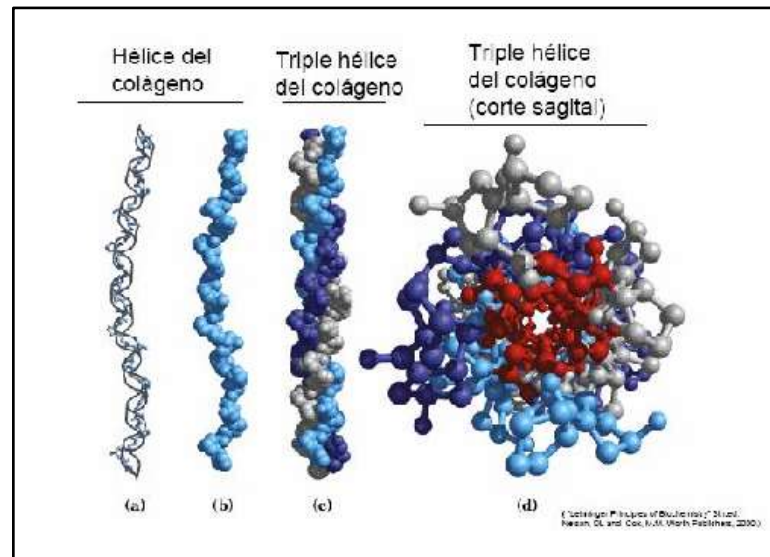


Ilustración 2-1: Estructura del colágeno

Fuente: (Jordi et al., 2010, pág. 37).

2.2.3.5. Métodos de extracción de colágeno de fuentes marinas

- Extracción del colágeno a partir de las escamas de pescado

Existen diferentes métodos que se pueden aplicar en la extracción de colágeno a partir de fuentes marinas (cartílagos, espinas, escamas, piel), el procedimiento general consiste en la preparación, extracción y recuperación. La preparación se lleva a cabo mediante la limpieza, separación y reducción de tamaño de las muestras, luego se procede con un pretratamiento químico, mismo que puede ser alcalino o ácido dependiendo de la materia prima y el método de extracción, esto con la finalidad de elevar la eficacia de la extracción y eliminar sustancias no colágenas (Cobeña et al., 2022, págs. 107-108; Valderrama et al., 2021, págs. 248-249).

Los métodos para la extracción de colágeno se describen a continuación:

- Hidrólisis ácida

Este método implica la ebullición prolongada de las proteínas presentes en las sustancias proteicas mediante la utilización de ácidos, como el ácido clorhídrico (HCl) y el ácido acético (AcOH). La

presencia de estos ácidos permite que la triple hélice de colágeno se hidrolice y sus cadenas simples se solubilicen en solución, dando lugar a la despolimerización de proteínas. Los enlaces cruzados presentes en la hélice de colágeno se rompen con la interacción del ácido y las moléculas del colágeno, permitiendo una extracción eficiente (Cobeña et al., 2022, pág. 108; Zelechwska, 2020, pág. 326).

- Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática comprende la descomposición de un compuesto en presencia de enzimas de tipo hidrolasa después de su reacción con el agua, produciendo la ruptura de los enlaces peptídicos. Obteniendo como resultado péptidos y aminoácidos de los que su composición final dependerá de la fuente proteica, tipo de enzima o enzimas utilizadas, condiciones de hidrólisis y el grado de hidrólisis alcanzado en la reacción. Las condiciones de reacción, como la temperatura y el pH son específicas de cada enzima para su óptima actividad (Cobeña et al., 2022, págs. 108-109; Espinoza y Castillo, 2022, pág. 136).

- Extracción profunda con solvente eutéctico (DES)

El método (DES) emplea una mezcla de dos compuestos, uno como Aceptor de enlace de Hidrógeno (HBA) y otro como Donante de enlace de Hidrógeno (HBD). Este método utiliza componentes naturales como el cloruro de colina, ácido oxálico, urea y etilenglicol, que son abundantes, biodegradables y de baja toxicidad. Esto hace que el (DES) sea ideal para extraer sustancias valiosas de subproductos animales, marinos y vegetales. El método tiene aplicaciones en campos como la química verde y la síntesis de materiales, requiere una alternativa más respetuosa con el medio ambiente en comparación con solventes convencionales (Cobeña et al., 2022, pág. 109; Kimura et al., 1991, págs. 473-473).

- Otros métodos

Entre otros métodos que se utilizan para la extracción del colágeno podemos mencionar: la extracción de fluido supercrítico (SFE), una alternativa verde que se basa en el uso de un fluido a presión temperatura más allá del punto crítico para lograr cambios físicos significativos, en esta técnica la molécula de CO₂ es la más utilizada debido a su baja toxicidad, rentabilidad, alta disposición, aceptabilidad ambiental, entre otras. También, se menciona la extracción de colágeno asistida por ultrasonido, que se caracteriza por ser un proceso de fácil operación, bajo costo y producción continua (Cobeña et al., 2022, pág. 109).

2.2.4. Celulosa

2.2.4.1. Definición

La celulosa es un polímero lineal, está compuesta por cadenas largas de glucosa que no representa ramificaciones y se encuentran en las paredes celulares de las plantas. Se encuentra con gran abundancia en la naturaleza y es de gran importancia biológica y valor industrial. La celulosa es un material resistente y rígida que sirve como soporte y estructura a las plantas, además es altamente modificable químicamente, permitiendo la introducción de diversos grupos funcionales a su estructura, mejorando las propiedades para adaptarla a diferentes aplicaciones (Gañán et al., 2017, págs. 1-4; Herrera, 2019, págs. 5-9).

2.2.4.2. Estructura y propiedades

La celulosa con fórmula ($C_6H_{10}O_5$), es caracterizada como un homopolímero lineal que no presenta ramificaciones. Está conformada por miles de subunidades de la D-glucosa unidos a través de enlaces glucosídicos β -1,4. La orientación de las moléculas de glucosa en la celulosa se invierte, mostrando una orientación β donde el grupo hidroxilo del carbono anomérico apunta hacia arriba en el plano del anillo de glucosa. La cadena de la celulosa presenta una asimetría química direccional con respecto a su eje molecular, en el cual un extremo es denominado reductor debido a la presencia de una unidad hemiacetal y el otro es no reductor ya que presenta un grupo hidroxilo colgante (A Level Biology, s.f.; Herrera, 2019, págs. 5-9; Guarnizo et al., 2009, pág. 284).

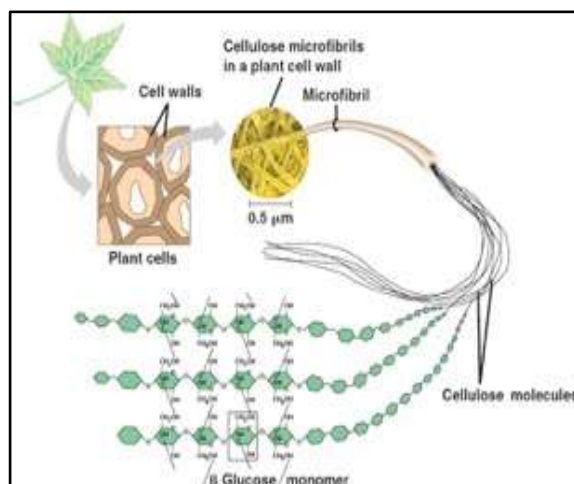


Ilustración 2-2: Estructura química de la celulosa.

Fuente: (A Level Biology, 2019.).

2.2.5. Grafito

2.2.5.1. Definición

El grafito es un material suave, de color gris a negro, tiene una dureza de 1-2, cristaliza en el sistema hexagonal, es estable y químicamente inerte a temperatura normal. Se encuentra en la naturaleza en pequeños cristales hexagonales en forma de agregados compactos, escamosos, terrosos y esféricos (Camimex, 2018, pág. 3; González, 2013, págs. 13-15).

El grafito representa la forma más estable del carbono y consta de capas planas tridimensionales de anillos de benceno. En estas capas los átomos de carbono están dispuestos en una red hexagonal con una separación de 0,142 nm y entre planos una separación de 0,335 nm (Villa, 2022: pág.13; González, 2013, págs. 13-15).

Entre las propiedades metálicas se tiene que el grafito es térmico y buen conductor de electricidad lo cual se debe a su hibridación sp^2 , que permite la deslocalización de los electrones del enlace π por encima y por debajo de los planos de los átomos de carbono (Villa, 2022: pág.13; González, 2013, págs. 13-15).

2.2.6. Grafeno

2.2.6.1. Definición

El grafeno es un nanomaterial dispuesto en una capa bidimensional de átomos de carbono con hibridación sp^2 que están conectados en una estructura reticular hexagonal. Presenta propiedades físico-químicas únicas, como gran área superficial, buena biocompatibilidad, fuerte resistencia mecánica, excelente conductividad térmica y rápido transporte de electrones (Solís, 2022, págs. 1-2; Villa, 2022: pág.13).

2.2.6.2. Óxido de grafeno

El óxido de grafeno se considera la forma oxidada y exfoliada del grafito, está constituido principalmente por carbono y presenta propiedades mecánicas distintivas. Contiene grupos funcionales que incluyen oxígeno, tales como epóxidos, hidroxilos, carbonilos y carboxilos. Estos grupos convierten al óxido de grafeno en un material con alta polaridad, por lo que es considerado como un derivado hidrofílico del grafeno (Solís, 2022, págs. 1-2; Villa, 2022: pág.13).

En lo que respecta a su estructura, el óxido de grafeno está dispuesto por una red hexagonal aromática similar a la del grafeno, pero la incorporación de los grupos oxigenados reduce su carácter aromático cambiando la hibridación de los carbonos de sp^2 a sp^3 . Esta alteración afecta sus propiedades mecánicas, eléctricas y químicas, permitiendo que los grupos oxigenados del óxido de grafeno creen una superficie química más compleja, la cual facilita más interacciones en su medio, siendo así un material prometedor para diversas aplicaciones biológicas (Solís, 2022, págs. 1-2).

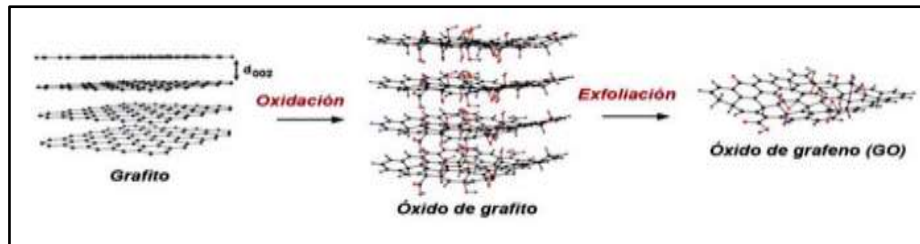


Ilustración 2-3: Reducción de grafito a óxido de grafeno (GO)

Fuente: (Osorio, 2016, pág. 13).

2.3. Bases legales

2.3.1. Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2643:2012

Según la norma NTE INEN 2643:2012, se entiende por plástico biodegradable aquel que ha sido diseñado para experimentar cambios significativos en su estructura química bajo condiciones ambientales específicas. Dichos cambios conducen a la pérdida de ciertas propiedades, las cuales pueden ser evaluadas mediante métodos de ensayo estándar apropiados para el plástico y su uso en un periodo de tiempo determinado que permite su clasificación (NTE INEN-643, 2012, pág.2).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Planteamiento de las hipótesis

3.1.1. *Hipótesis general*

- El colágeno de escamas de pescado, la celulosa y el óxido de grafeno permiten elaborar un biopolímero con buenas propiedades.

3.1.2. *Hipótesis específicas*

- El método hidrolisis enzimática permite sintetizar colágeno para la matriz del biopolímero.
- Existe una diferencia significativa en la composición, estructura y morfología de la matriz del biopolímero que se denota empleando técnicas espectroscópicas y microscópicas tales como FT-IR y SEM.
- Las láminas de biopolímero se degradan en un tiempo determinado.
- Existe una diferencia significativa en las propiedades mecánicas entre al menos dos de los tratamientos del biopolímero.
- Los costos de producción de los biopolímeros estarán influenciados por factores como el tipo de materia prima utilizada y los procesos de producción empleados.

3.2. Identificación de variables

Tabla 3-1: Identificación de variables

No.	Proceso	VARIABLES INDEPENDIENTES	VARIABLES DEPENDIENTES
1	Obtención de colágeno	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Materia prima ▪ Reactivos. ▪ Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colágeno de escamas de pescado obtenido.
2	Síntesis de óxido de grafeno	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Reactivos ▪ Agua purificada 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Temperatura.
3	Obtención de celulosa.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Materia prima ▪ Reactivos. ▪ Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Celulosa obtenida del papel reciclado.
4	Obtención del biopolímero.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aditivos ▪ Temperatura 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Espesor. ▪ Humedad. ▪ Solubilidad ▪ Permeabilidad. ▪ Biodegradabilidad. ▪ Tracción

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.3. Operacionalización de variables

Tabla 3-2: Operacionalización de variables

Concepto	Dimensiones	Categorías	Indicadores	Métodos/Técnica/ Instrumentos
VARIABLES INDEPENDIENTES: colágeno de escamas de pescado				
Es la proteína más abundante del cuerpo humano y la más abundante de origen animal, representa 30% de todas las proteínas de los organismos animales. El colágeno consta de tres cadenas de aminoácidos enlazadas o triple hélice, lo que le permite una mayor resistencia mecánica y capacidad de retención de humedad (Contreras, 2015, pág. 3; Muyonga et al., 2003, págs. 81-82)	Propiedades físico-químicas del colágeno.	Humedad	%	Estufa
		Gelatinización	°C	Termómetro
		Viscosidad	mPas	DV-1 VISCOMETER, AGUJA SPL2
		Densidad aparente	g/ml	Probeta/Balanza analítica
		Solubilidad	%	Vasos de precipitación
		Ph	pH	Thermo scientific
		Conductividad	%	Conductímetro
		Granulometría	Um	Tamizador

Variables dependientes: Biopolímero				
Los biopolímeros se definen como polímeros biodegradables, son producidos por organismos vivos, están formados de macromoléculas por la unión covalente de unidades moleculares más pequeñas conocidas como mesómeros, las cuales se obtienen en el proceso de polimerización de moléculas más pequeñas llamadas monómeros. (Mandujano, 2020, pág. 6)	Propiedades físico-químicas del biopolímero	Humedad	%	Estufa
		Biodegradabilidad	cm ²	ImageJ
		Permeabilidad	%	Balanza analítica
		Solubilidad	%	Vasos de precipitación-Estufa
		Resistencia mecánica		Maquina Universal de ensayos (WAW 6008)
		Espesor	Mm	
		Tracción	MPa	
		Morfología	Textura y forma de la superficie de la muestra	Microscopio electrónico de barrido (SEM)
		Composición	Grupos funcionales	Espectroscopio FT-IR
	Caracterización			

Fuente: Contreras, 2015, pág. 3; Muyonga et al., 2003, págs. 81-82; Mandujano, 2020, pág. 6.

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.4. Matriz de consistencia

Tabla 3-3: Matriz de consistencia

Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Es posible elaborar un biopolímero con buenas propiedades empleando colágeno de escamas de pescado enriquecido con celulosa y óxido de grafeno?	Elaborar un biopolímero empleando colágeno de escamas de pescado enriquecido con celulosa y óxido de grafeno.	El colágeno de escamas de pescado, la celulosa y el óxido de grafeno permiten elaborar un biopolímero con buenas propiedades.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas

<p>¿Es posible sintetizar el colágeno a partir del método de hidrólisis enzimática que será utilizado en la matriz del biopolímero?</p>	<p>Sintetizar la matriz del biopolímero de colágeno a partir de un método de hidrólisis enzimática.</p>	<p>H₀: El método hidrólisis enzimática permite sintetizar colágeno para la matriz del biopolímero. H₁: El método hidrólisis enzimática no permite sintetizar colágeno para la matriz del biopolímero.</p>
<p>¿Es posible establecer formulaciones adecuadas con las cantidades correctas para obtener biopolímeros con excelentes propiedades mecánicas?</p>	<p>Establecer 6 formulaciones diferentes empleando materiales y nanomateriales como celulosa y óxido de grafeno evaluando sus propiedades mecánicas.</p>	<p>H₀: Las formulaciones obtenidas con celulosa y óxido de grafeno presentan buenas características mecánicas. H₁: Las formulaciones obtenidas con celulosa y óxido de grafeno no presentan buenas características mecánicas.</p>
<p>¿Se puede determinar las propiedades físico-químicas y mecánicas que tendría el biopolímero mediante un análisis FTIR y SEM?</p>	<p>Caracterizar la morfología y estructura química de los biopolímeros obtenidos mediante técnicas espectroscópicas y microscópicas como FTIR y SEM.</p>	<p>H₀: Existe una diferencia significativa en la composición, estructura y morfología de la matriz del biopolímero usando técnicas espectroscópicas y microscópicas como FTIR y SEM. H₁: No existe una diferencia significativa en la composición, estructura y morfología de la matriz del biopolímero usando técnicas espectroscópicas y microscópicas como FTIR y SEM.</p>
<p>¿Cuál es el tiempo de degradación de los biopolímeros obtenidos a partir de las formulaciones establecidas?</p>	<p>Determinar el tiempo de degradación de los biopolímeros obtenidos.</p>	<p>H₀: Si se degradan en un tiempo determinado los biopolímeros. H₁: No se degradan en un tiempo determinado los biopolímeros.</p>

¿Cuál tratamiento presenta mejores propiedades de tracción según un estudio ANOVA?	Efectuar un estudio ANOVA para escoger el tratamiento del biopolímero que presente mejores propiedades de tracción.	<p>H₀: Existe una diferencia significativa en las propiedades de tracción entre al menos dos de los tratamientos del biopolímero.</p> <p>H₁: No existe una diferencia significativa en las propiedades de tracción entre al menos dos de los tratamientos del biopolímero.</p>
¿Cómo influyen el tipo de materia prima y los procesos empleados en el costo de producción del biopolímero?	<ul style="list-style-type: none"> • Estimar el costo de producción del biopolímero. 	<p>H₀: Los costos de producción de los biopolímeros estarán influenciados por factores como el tipo de materia prima utilizada y los procesos de producción empleados.</p> <p>H₁: Los costos de producción de los biopolímeros no estarán influenciados por factores como el tipo de materia prima utilizada y los procesos de producción empleados.</p>

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.5. Tipo y diseño de investigación

3.5.1. Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo experimental que nos permitirá manipular las variables independientes a través de sus características de concentración, variación de pH y densidad, para así poder llegar a la formulación y elaboración adecuada del biopolímero que será nuestra variable dependiente. Además, el estudio realizado sigue los lineamientos tipo explicativo, debido a que tiene como objetivo verificar la relación de las causas y efectos de las variables que están involucradas en el estudio, para obtener un biopolímero de colágeno a partir de las escamas de pescado con celulosa y óxido de grafeno.

3.5.2. Diseño de investigación

La investigación tiene un diseño experimental completamente al azar con 3 réplicas en cada tratamiento, mismo que ayudara a identificar la tendencia negativa o positiva que está presente en el biopolímero. Por último, se utilizará un programa estadístico que facilitará los cálculos.

3.6. Unidad de análisis

El propósito del análisis es el mejorar las propiedades del biopolímero de colágeno extraído de las escamas de pescado, a través de la adición de celulosa y óxido de grafeno en la matriz del mismo, por tanto, se realizaron seis formulaciones en las cuales se varia la concentración de la celulosa y el óxido de grafeno. Las matrices obtenidas se procedieron a caracterizar física y mecánicamente para determinar las propiedades con el fin de comprobar un mejoramiento en aquellas propiedades y seleccionar la mejor.

3.7. Población de estudio

Esta investigación tiene como población de estudio las escamas de pescado, por lo cual el estudio es considerado finito, se consideró 250g de escamas limpias para la extracción.

3.8. Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra a utilizar consta de 6 tratamientos cada uno con tres repeticiones, lo que dará lugar a un total de 18 casos.

Tabla 3-4: Diseño experimental totalmente al azar (DCA) para la elaboración del biopolímero con celulosa y óxido de grafeno

N.º	Composición de la base	Aditivos	Repetición
1	CAG	CL1	1
2			2
3			3
4		GO1	1
5			2
6			3
7		CL1+GO1	1
8			2
9			3
10		CL2	1
11			2
12			3
13			1

14		GO2	2
15			3
16		CL2+GO2	1
17			2
18			3

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Donde:

- **CAG:** Cantidades conocidas de colágeno, alcohol polivinílico, glicerina y agua destilada.
- **CL1:** Celulosa (0,06)
- **CL2:** Celulosa (0,12).
- **GO1:** Óxido de grafeno (1.5 ml).
- **GO2:** Óxido de grafeno (2.5 ml).

3.9. Selección de muestra

La muestra se elige de manera no probabilística, dado que la cantidad de colágeno a extraer de las escamas de pescado es una variable dependiente que solo depende del proceso de extracción utilizado.

3.10. Técnicas de recolección de datos

3.10.1. Extracción de colágeno

Tabla 3-5: Técnica para la extracción de colágeno de escamas de pescado

Técnica	Materiales y equipos	Reactivos	Procedimiento	Técnica de ensayo
Hidrólisis Enzimática	<ul style="list-style-type: none"> • Probeta. • Espátula. • Tamices de malla N.º 150µ y 300µ. • Balanza analítica. • Estufa con recirculación de aire. • Daysi II. • Congelador. • Liofilizador Ilzhim. • Bolsas de filtro de fibra • Selladora de fundas. • pH metro. • Fundas ziploc. • Cronómetro. 	<ul style="list-style-type: none"> • Hidróxido de Sodio 3% • Ácido Acético 3% • Rennina CHY – MAX 	<p>Obtención de la harina de escama de pescado</p> <ul style="list-style-type: none"> • Adquisición de la materia prima: Se realizó la recolección de las escamas de pescado del mercado EP-EMMPA de la ciudad de Riobamba. • Lavado: Las escamas se proceden a enjuagar con abundante agua para eliminar las impurezas, seguido de un enjuague con agua destilada. • Ecurrimiento y pesaje: Las escamas se colocan extendidas en un papel para eliminar el exceso de agua. • Secado: A continuación, las escamas se disponen en una bandeja y se llevan a la estufa a una temperatura de 60°C por 48 horas. • Trituración: Las escamas secas se las tritura en un molino hasta obtener como resultado la harina. • Empaque: La harina obtenida se almacena en bolsas ziploc para evitar contaminaciones. <p>Extracción del colágeno</p> <ul style="list-style-type: none"> • Adquisición de materias primas y aditivos: Se verifica que la harina de escamas de pescado se encuentre homogenizada y se recepta los aditivos que se emplean en el proceso. • Enfundado y pesaje: Pesar muestras de harina de escamas cada una de 4 gramos y colocarlas en bolsas de filtro de fibra. 	(Flores, 2017)

			<ul style="list-style-type: none"> • Lavado: Se realiza una disolución de hidróxido de sodio al 3%. Posteriormente, se coloca 10 bolsas y 500 ml de la disolución por cada compartimento del equipo Daysi II a cabo de 3 horas. • Enjuagado: Cada una de las bolsas enjaguar con agua destilada hasta que el pH del lavado sea igual al agua purificada, con el fin de remover los residuos de hidróxido de sodio. • Disolución ácida: Se diluye ácido acético concentrado al 3%, se añaden 500 ml de la disolución y las bolsas de las muestras por cada uno de los compartimentos de Equipo Daysi II. • Reacción Enzimática: Para este paso se añade 75 ml de la enzima rennina, a cada una de los compartimientos junto con la dilución de ácido acético y las bolsas de las muestras. Se deja actuar durante 24 horas a una temperatura de 38 °C, donde la enzima comercial CHY-MAX se incubará. • Hidrolizado y almacenado: Enfriar a -4 °C las muestras obtenidas de colágeno en ácido acético. • Liofilizado: Las muestras se colocan en los frascos del equipo Ilzhin durante un periodo de 24 horas. • Almacenado: Finalmente, liofilizadas las muestras de colágeno se deben almacenar en fundas a temperatura ambiente. 	
--	--	--	--	--

Fuente: Flores, 2017.

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.10.1.1. Diagrama de flujo para la obtención de colágeno de escamas de pescado

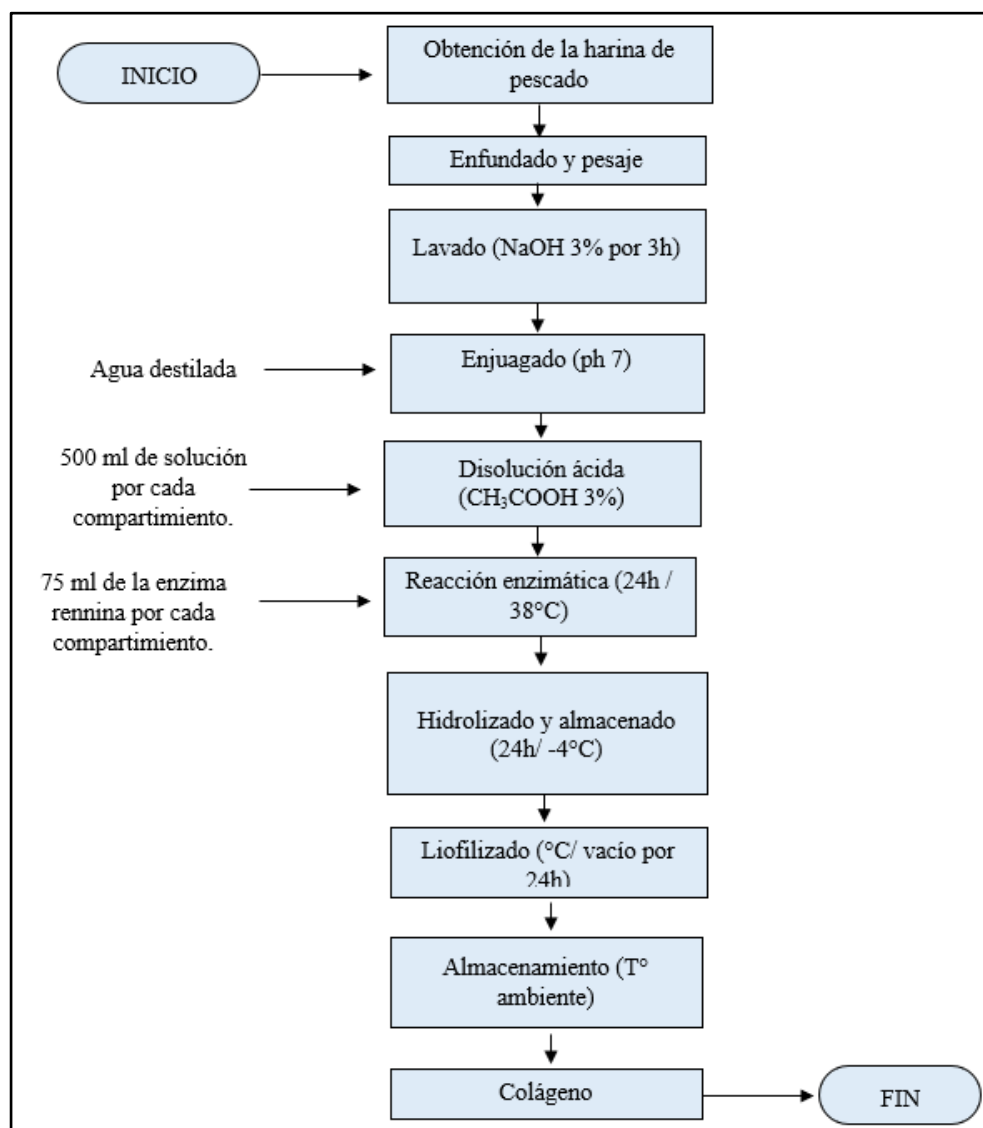


Ilustración 3-1: Extracción de colágeno de escamas de pescado

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.10.2. Síntesis de óxido de grafeno

Tabla 3-6: Técnica para la síntesis del óxido de grafeno

Técnica	Materiales y equipos	Reactivos	Procedimiento	Técnica de ensayo
Hummers modificado	<ul style="list-style-type: none"> • Vaso de precipitación de 1000 ml. • Vasos de precipitación. • Espátula. • Olla de aluminio. • Reverbero. • Balanza analítica. • Campana de extracción de gases. • Agitador magnético. • Magneto. • Aceite de cocina. • Bureta de 10 mL. • Pipeta de 10 mL. • Vidrio reloj. • Termómetro digital. • Tubos falcón de 50 ml. • Soporte universal. • Vidrio pírex. • Pera de succión. • Hielo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Grafito. • Permanganato de potasio (KMnO₄). • Agua destilada (H₂O). • Ácido sulfúrico (H₂SO₄). • Peróxido de hidrógeno (H₂O₂). • Ácido clorhídrico (HCl). 	<ul style="list-style-type: none"> • Pesar 3 g de grafito y añadir al vaso de precipitación, el cual debe estar sumergido en un baño de hielo. • Añadir 70 ml de H₂SO₄ en constante agitación para homogenizar toda la mezcla. • Lentamente por 20 minutos se agregan los 9 g de KMnO₄, manteniendo la temperatura por debajo de los 20°C en un baño de hielo por 45 minutos. • Trasferir la solución a un baño de aceite precalentado a 50 °C, el proceso dura por 30 minutos bajo agitación vigorosa, controlar que la temperatura no sobrepase los 50°C. • Añadir 150 ml de agua destilada gota a gota con apoyo de la bureta por 20 minutos. La solución produce una reacción exotérmica., por lo que la temperatura incrementará a 90°C, la misma que debe ser regulada mediante un baño de hielo. En caso de que la reacción no alcance la temperatura deseada se le debe ayudar con el baño de aceite. • Adicionar gota a gota 15 ml de peróxido de hidrogeno con ayuda de la bureta, en este paso el color de la solución debe cambiar de café oscuro a mostaza, este cambio de coloración indica la obtención del óxido de grafito. Seguido, agregar 500 ml de agua destilada. • Centrifugar la solución por 10 minutos a 3000 rpm. 	(Vasconez, 2022)

	<ul style="list-style-type: none"> • Estufa con recirculación de aire. • pHmetro. 		<ul style="list-style-type: none"> • Con la solución de HCl 1:10 se debe lavar el precipitado por una vez y luego se deben realizar de 5 a 7 lavados con agua destilada hasta obtener un pH de 7. • El precipitado debe ser secado a una temperatura de a 80°C por 24 horas en un recipiente pyrex. • Pesar el precipitado y por cada gramo disolver en 1 litro de agua destilada. • Una vez lista la solución, sónica por 1 hora hasta disolver todo el material. • La solución se debe centrifugar durante 30 minutos a 1000 rpm. El material sobrenadante obtenido es óxido de grafeno, que es menos denso que el precipitado correspondiente al óxido de grafito que no ha sido exfoliado. • Almacenar en frascos ámbar la solución, etiquetar y conservar para su posterior uso. 	
--	---	--	---	--

Fuente: Vásconez, 2022, pág.39.

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.10.2.1. Diagrama de flujo para la síntesis del óxido de grafeno

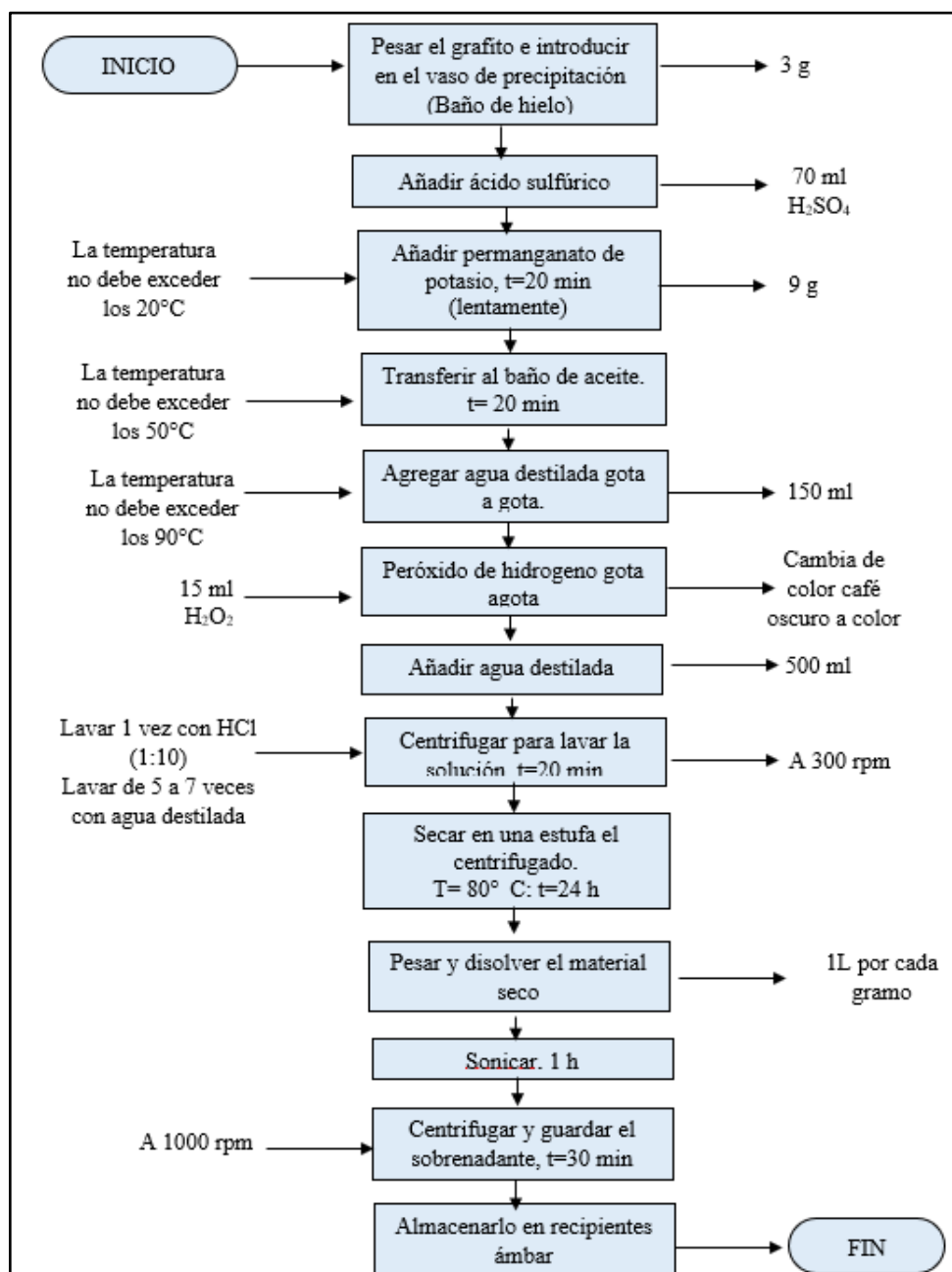


Ilustración 3-2: Síntesis del óxido de grafeno

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.10.3. Obtención de la celulosa

Tabla 3-7: Técnica para la obtención de celulosa de papel reciclado

Técnica	Materiales y equipos	Reactivos	Procedimiento	Técnica de ensayo
Sosa modificada	<ul style="list-style-type: none"> • Papel reciclado. • Estufa. • pH metro. • Tela filtrante. • Reverbero. • Termómetro. • Molino. • Fundas ziploc. • Sonificador de punta 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada • Hidróxido de sodio (NaOH) 7% • Hipoclorito de sodio (NaClO) (H₂O₂) 1%. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se receipta la materia prima, en este caso hojas de papel reciclado. • Las hojas de papel reciclado se cortan en un diámetro considerable y posterior a esto se pesan 80 g de este. • Una vez pesados los 80 g de papel reciclado se realiza un pretratamiento con agua purificada a 70°C durante 4 horas en una proporción de fibra/agua de 1:10, esto con la finalidad de eliminar las sustancias solubles en el agua. Luego, se filtra el papel y se deja secar en una estufa a 60°C por 24 horas. Se pesa y se realiza un tratamiento alcalino. • Se procede a realizar un tratamiento alcalino con una solución al 7% de NaOH utilizando los 80 gramos de papel reciclado seco obtenido después del pretratamiento. Este proceso se lleva a cabo durante 2 horas siguiendo determinadas para cada experimento planteado. Al terminar el tiempo de reacción se filtra la solución resultante, lo que da como resultado celulosa de color marrón debido a la presencia de lignina y el licor negro correspondiente a residuos de lignina, hemicelulosa y sustancias químicas utilizadas en el tratamiento. • Se lava el residuo insoluble obtenido del filtrado con abundante agua destilada hasta alcanzar un pH neutro. • Se realiza un proceso de blanqueamiento para eliminar parte de la lignina que no se elimina con el tratamiento alcalino, para ello se utiliza una solución de hipoclorito 	(Sanaguano Peralta, 2021)

			<p>de sodio (NaClO) al 1%, en relación fibra/solución de 1:10 a 90°C por 1 hora bajo agitación continua.</p> <ul style="list-style-type: none">• Lavar y filtrar la celulosa con agua destilada hasta que el agua alcance un pH neutro, lo cual indica la eliminación de la solución de hipoclorito de sodio.• La celulosa obtenida se deja secar a temperatura ambiente durante 24 horas. Después se muele hasta obtener un tamaño pequeño, se tamiza y se almacena en bolsas ziploc etiquetados adecuadamente.	
--	--	--	---	--

Fuente: Sanaguano, 2021, pág. 30.

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.10.3.1. Diagrama de flujo para la obtención de celulosa

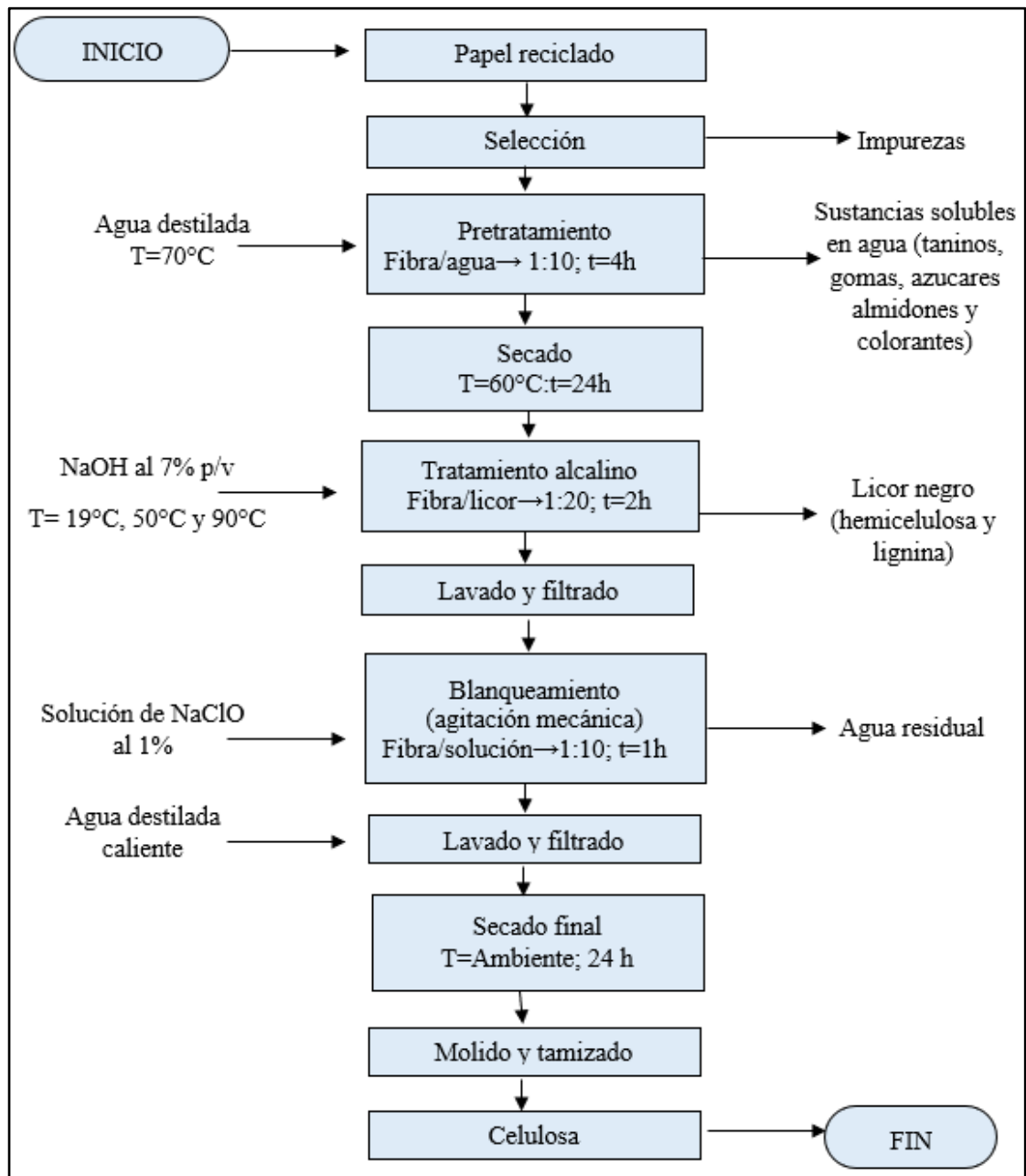


Ilustración 3-3: Obtención de celulosa a partir de papel reciclado

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.10.4. Obtención del biopolímero

Tabla 3-8: Técnica para la obtención del biopolímero

Técnica	Materiales y equipos	Reactivos	Procedimiento	Técnica de ensayo
Obtención del biopolímero	<ul style="list-style-type: none"> • Vasos de precipitación de 250 mL. • Moldes de vidrio. • Cajas petri. • Termómetro. • Probetas graduadas. • Varilla de agitación. • Reverbero. • Balanza analítica. • Estufa con recirculación de aire. • Espátula. 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada (H₂O). • Colágeno. • Celulosa. • Óxido de grafeno. • Alcohol polivinílico 7%. • Glicerina. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pesar 0,5 g de colágeno de escamas de pescado. • Agregar el colágeno en un vaso de precipitación juntamente con 12 ml de agua destilada y agitar la mezcla. • Adicionar 8 ml de alcohol polivinílico, 0,5 ml de glicerina y el aditivo de acuerdo al tratamiento escogido como la celulosa o el óxido de grafeno de acuerdo con las formulaciones establecidas. • Llevar a sónica la solución por 5 minutos para lograr una mezcla homogénea. • Verter las mezclas en cajas petri o moldes de vidrio. • Colocar las muestras en la estufa a una temperatura de 60 °C durante 24h. • Después de que las muestras estén completamente secas, retirarlas de los moldes de vidrio y almacenarlas en fundas ziploc para su posterior uso. 	(Mata et al., 2017)

Fuente: Mata, 2017, pág. 24.

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.10.4.1. Diagrama de flujo para la elaboración de biopolímero con celulosa y óxido de grafeno

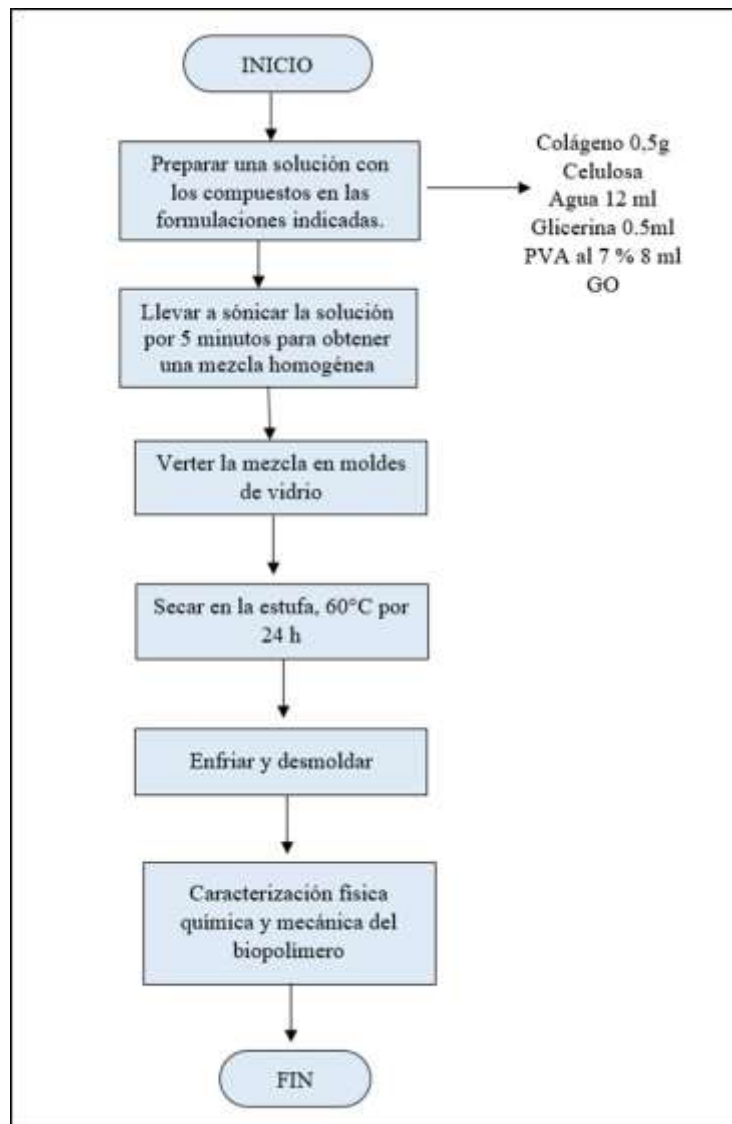


Ilustración 3-4: Obtención del biopolímero

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

3.10.5. Caracterización del biopolímero

Tabla 3-9: Caracterización del biopolímero.

N.º	Análisis	Materiales y equipos	Reactivos	Procedimiento	Cálculo	Técnica de ensayo
1	Espesor	<ul style="list-style-type: none"> • Láminas de bioplástico. • Calibrador digital. • Estilete. 	-	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Utilizar el calibrador digital para determinar el grosor de cada lamina del biopolímero. ▪ Recortar la película a 2,5 cm x 2,5 cm. ▪ Registrar las medidas reales obtenidas durante el proceso. 	Medición directa	(Guamán Bravo, 2019)
2	Humedad	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estufa. ▪ Láminas de bioplástico. ▪ Balanza analítica. ▪ Crisoles. 	-	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cortar muestras de 2,5 cm x 2,5 cm de las láminas del biopolímero y tomar su peso inicial. ▪ Colocar en una estufa durante 24 horas a 105°C. ▪ Retirar las muestras de la estufa y anotar su peso final. 	$\% \text{ de humedad} = \frac{PIB - PFBS}{PIB} \times 100$ <p>Ecuación 3-1: Porcentaje de humedad.</p> <p>Donde:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ PIB= peso inicial del biopolímero. ▪ PFBS= peso final del biopolímero seco. 	(Morocho et al., 2021, págs. 1-15)
3	Solubilidad	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cajas petri. ▪ Shaker. ▪ Medio filtrante. ▪ Estufa. ▪ Balanza analítica. ▪ Cronómetro. 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> • Las muestras finales del ensayo de humedad se colocan en matraces Erlenmeyer y se añade 80 ml de agua destilada. ▪ Se colocan los matraces Erlenmeyer en el Shaker a 100 RPM durante 1 hora. ▪ Filtrar la muestra y colocarla en una estufa a 40 °C hasta que esté completamente seca. ▪ Aumentar la temperatura a 105 °C para lograr un peso constante. 	$\% \text{ de solubilidad} = \frac{PIBS - PFBS}{PIBS} \times 100$ <p>Ecuación 3-2: Porcentaje de solubilidad.</p> <p>Donde:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ PIBS= peso inicial del biopolímero seco. ▪ PFBS= peso final del biopolímero seco. 	(Guamán Bravo, 2019)
4		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tubos de ensayo. ▪ Bioplástico. 		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Llenar ³/₄ del tubo con gel de sílice activado. ▪ Cortar la película del biopolímero en dimensiones de 2,5 cm x 2,5 cm. 		

	Permeabilidad	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cinta de embalaje. ▪ Gradilla. ▪ Desecador. ▪ Solución de NaCl sobresaturada. ▪ Calibrador digital. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gel de sílice activado a 200 °C por 24 horas. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tapar la boca del tubo de ensayo con un film biodegradable cortado. ▪ Sellar el biopolímero y el tubo con cinta adhesiva. ▪ Colocar los tubos en el soporte. ▪ Colocar la muestra en un desecador a temperatura ambiente. ▪ Las muestras se pesan cada hora, 7 veces seguidas, 24 horas después del último pesaje. 	$WVP = \frac{(P2 - P1) * e}{t * pv * (\phi2 - \phi1)}$ <p>Ecuación 3-3: Permeabilidad de vapor de agua del biopolímero.</p> <p>Donde:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ P1: Peso inicial (g). ▪ P2: Peso final(g). ▪ T: tiempo empleado (h). ▪ e: espesor (mm). ▪ pv: presión de vapor de agua (MPa). ▪ $\phi2$: humedad relativa 1. ▪ $\phi1$: humedad relativa 1. 	ASTM D1653-93 Métodos de prueba estándar para la transmisión de vapor de agua de una película de Recubrimiento orgánico.
5	Tracción	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Probetas para prueba de tracción. ▪ Máquina universal para pruebas de tracción. 	-	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Preparar la maquina universal. ▪ Ajustar los extremos de la muestra del biopolímero en la prueba de equipo. ▪ Empezar la prueba en la maquina universal. ▪ Registrar los valores obtenidos durante la prueba. 	Los resultados obtenidos son base al incremento de longitud que experimenta la probeta del biopolímero como consecuencia de la fuerza ejercida por la maquina universal.	NTE INEN 2635:012. Métodos de ensayo para las propiedades de tracción de láminas plásticas delgadas.
6	Biodegradabilidad	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Láminas del biopolímero. ▪ Cajas Petri. ▪ Programa Image J. 	-	<ul style="list-style-type: none"> • Cortar el biopolímero en trozos de 2,5 cm x 2,5 cm. • Colocar las muestras del biopolímero en tres entornos diferentes: suelo, agua y ambiente. • Examinar los trozos del biopolímero en el programa image J cada 3 días. • Anotar los valores de las variaciones en las áreas obtenidas. 	$\%Biodegradabilidad = \frac{\text{Área inicial} - \text{Área final}}{\text{Área inicial}} * 100$ <p>Ecuación 3-4: Cálculo de la biodegradabilidad.</p>	Método de disminución de área.

Fuente: Morocho et al., 2021, págs. 1-15.

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Datos

4.1.1. Ensayos físico -químicos realizados con la materia prima

4.1.1.1. Caracterización física de las escamas de pescado

Con el fin de caracterizar las escamas de pescado, se obtuvo una muestra de 20 escamas seleccionadas completamente al azar, por lo que se verifica el diámetro y el grosor con herramientas como el pie de rey digital. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 4-1: Evaluación de las escamas

N.º	Producto	Diámetro (mm)	Grosor (mm)
1	Escamas de pescado	2,3	0,2
2		2	0,2
3		2,1	0,3
4		1,9	0,2
5		2	0,3
6		1,9	0,3
7		1,9	0,2
8		2	0,3
9		2,3	0,4
10		1,8	0,3
11		2,3	0,2
12		2,2	0,4
13		2,1	0,3
14		1,8	0,2
15		2,1	0,3
16		2,2	0,2
17		1,8	0,2
18		1,8	0,3
19		2,1	0,3
20		2,1	0,2

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.1.1.2. Obtención de colágeno de escamas de pescado

La extracción de colágeno se obtuvo mediante una trituration de las escamas, donde se obtuvo la harina de escamas, misma que se llevó a un tratamiento químico para eliminar las sustancias no colágenas de la harina, para ello se realizó un lavado con hidróxido de sodio al 3% por 4 horas

en constante agitación, posteriormente se aplicó una disolución ácida con la aplicación de la enzima rennina que se encubo a 38°C en el equipo Daysi II por 24 horas, finalmente el colágeno obtenido se liofilizo para una mejor conservación . La siguiente tabla muestra el proceso mencionado.

Tabla 4-2: Extracción de colágeno

Materia Prima	Peso (g)	Producto intermedio	Peso(g)	Producto final	Peso(g)
Escamas	250	Harina de pescado	152	Colágeno	118,50

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.1.2. Síntesis de óxido de grafeno

En el caso del óxido de grafeno, se emplearon reactivos como grafito, ácido sulfúrico (H₂SO₄), permanganato de potasio (KMnO₄), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y agua destilada. Estos reaccionan para producir óxido de grafito y posteriormente óxido de grafeno a través de procesos de lavado, secado y centrifugación. Los datos correspondientes se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 4-3: Obtención de óxido de grafeno

Materia Prima	Peso (g)	Producto intermedio	Peso (g)	Producto final	Peso (g)
Grafito	3,000	Óxido de grafito	3, 205	Óxido de grafeno	2,058

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.1.3. Obtención de celulosa

Para la extracción de la celulosa se emplearon reactivos como hidróxido de sodio (NaOH) y agua destilada, que a través de agitación continua provoca la ruptura de las membranas y por ende una reducción de tamaño, posteriormente se agregó hipoclorito de sodio (NaClO) con temperatura y agitación constante, se aclaró la solución, finalmente mediante lavados y secados se obtuvo la celulosa del papel reciclado.

Tabla 4-4: Obtención de celulosa

Materia Prima	Peso (g)	Producto final	Peso (g)
Papel reciclado	80,000	Celulosa	76,430

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.1.4. Pruebas físico-químicas y mecánicas del biopolímero

4.1.4.1. Formulación del biopolímero

Para elaborar el biopolímero se utilizaron de base las mejores concentraciones y volúmenes de la formulación que presento mejores características de acuerdo a la investigación de (Núñez, 2014). Este tratamiento resulto ser el más efectivo en términos de las propiedades analizadas.

Tabla 4-5: Biopolímero base

N.º	Tratamiento	Cantidad de colágeno (g)	Cantidad de alcohol polivinílico (ml)	Cantidad de agua destilada (ml)	Cantidad de glicerina (ml)	Tiempo de secado (h)	Temperatura de secado (°C)
1	TBC-0	0,5	8,000	12,000	0,5	24	60

Fuente: (Núñez, 2014).

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.1.4.2. Formulación del biopolímero con celulosa y óxido de grafeno

En la elaboración del biopolímero se tomaron las cantidades de colágeno, alcohol polivinílico, glicerina y agua destilada basadas en la mejor formulación de investigaciones previas con modificaciones aplicadas para el caso. La adición de celulosa y óxido de grafeno correspondió a una temperatura de secado controlada, con un diseño factorial totalmente al azar con 6 tratamientos y 3 repeticiones cada uno, obteniendo un total de 18 repeticiones experimentales.

Tabla 4-6: Formulaciones del biopolímero con celulosa y óxido de grafeno

N.º	Tratamiento	Cantidad de colágeno (g)	Cantidad de alcohol polivinílico (ml)	Cantidad de glicerina (ml)	Cantidad de agua destilada (ml)	Cantidad de celulosa (g)	Cantidad de óxido de grafeno (ml)	Repeticón	Tiempo de secado (h)	Temperatura de secado (°C)
1	TBC-0	0,500	8	0,500	12	0	0	R1	24	60
						R2				
						R3				
2	TBC-1					0,060	0	R1	24	60
						R2				
						R3				
3	TBC-2					0	1,500	R1	24	60
		R2								
		R3								
4	TBC-3	0,060	1,500	R1	24	60				
		R2								
		R3								
5	TBC-4	0,120	0	R1	24	60				
		R2								
		R3								
6	TBC-5	0	2,500	R1	24	60				
		R2								
		R3								
7	TBC-6	0,120	2,500	R1	24	60				
		R2								
		R3								

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Para las pruebas correspondientes de los biopolímeros se emplearon muestras de 2,5 × 2,5 cm en cada repetición.

- Espesor de los biopolímeros

El espesor de los biopolímeros se realizó midiendo 5 regiones de las muestras de cada tratamiento, se empleó el pie de rey digital.

Tabla 4-7: Medición de espesor de los biopolímeros

N.º	Tratamiento	Repetición	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)	Muestra 4(mm)	Muestra 5 (mm)
1	TBC-0	1	0,200	0,100	0,100	0,200	0,200
		2	0,100	0,100	0,200	0,100	0,100
		3	0,100	0,100	0,100	0,100	0,200
2	TBC-1	1	0,100	0,100	0,200	0,200	0,100
		2	0,200	0,200	0,100	0,200	0,100
		3	0,100	0,100	0,200	0,200	0,100
3	TBC-2	1	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
		2	0,100	0,200	0,100	0,200	0,100
		3	0,100	0,100	0,200	0,200	0,200
4	TBC-3	1	0,200	0,200	0,100	0,200	0,100
		2	0,100	0,100	0,200	0,100	0,200
		3	0,100	0,200	0,200	0,200	0,200
5	TBC-4	1	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200

		2	0,100	0,200	0,200	0,200	0,100
		3	0,200	0,100	0,100	0,200	0,200
6	TBC-5	1	0,100	0,200	0,200	0,100	0,100
		2	0,200	0,200	0,100	0,100	0,200
		3	0,100	0,200	0,100	0,100	0,200
7	TBC-6	1	0,100	0,100	0,100	0,200	0,200
		2	0,200	0,200	0,200	0,200	0,100
		3	0,200	0,100	0,200	0,200	0,200

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

- Ensayo de humedad de los biopolímeros

Para la determinación de la humedad se colocaron muestras por triplicado de cada tratamiento en una estufa a 105 °C por 24h. Se tomó el peso inicial y final de cada una de las muestras, los datos se muestran a continuación.

Tabla 4-8: Ensayo de humedad de los biopolímeros

N.º	Tratamiento	Repetición	Peso inicial (g)	Peso final (g)
1	TBC-0	1	0,106	0,072
		2	0,131	0,087
		3	0,116	0,082
2	TBC-1	1	0,088	0,058
		2	0,099	0,065
		3	0,086	0,057
3	TBC-2	1	0,094	0,073
		2	0,107	0,060
		3	0,107	0,070
4	TBC-3	1	0,139	0,103
		2	0,122	0,087
		3	0,121	0,078
5	TBC-4	1	0,147	0,097
		2	0,108	0,074
		3	0,110	0,077
6	TBC-5	1	0,119	0,075
		2	0,155	0,085
		3	0,162	0,092
7	TBC-6	1	0,133	0,071
		2	0,152	0,081
		3	0,160	0,087

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

- Solubilidad del biopolímero

Para realizar la prueba de solubilidad se tomaron las muestras que fueron utilizadas en las pruebas de humedad, mismas que se colocaron en un equipo Shaker por un periodo de 60 min a 100 rpm, finalmente se filtraron y se secaron en una estufa a 105°C.

Tabla 4-9: Ensayo de solubilidad de los biopolímeros

N.º	Tratamiento	Repetición	Peso inicial (g)	Peso final (g)
1	TBC-0	1	0,072	0,027
		2	0,087	0,024
		3	0,082	0,028
2	TBC-1	1	0,058	0,012
		2	0,065	0,010
		3	0,057	0,023

3	TBC-2	1	0,073	0,011
		2	0,060	0,001
		3	0,070	0,009
4	TBC-3	1	0,103	0,016
		2	0,087	0,019
		3	0,078	0,024
5	TBC-4	1	0,097	0,018
		2	0,074	0,018
		3	0,077	0,013
6	TBC-5	1	0,075	0,034
		2	0,085	0,026
		3	0,092	0,031
7	TBC-6	1	0,071	0,017
		2	0,081	0,03
		3	0,087	0,029

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

- Permeabilidad al vapor de agua

Para evaluar la permeabilidad al vapor de agua se colocaron las muestras de biopolímeros en tubos de ensayos que contenían silica gel y se tomaron sus pesos cada hora, registrándose un total de 7 pesos en esta prueba.

Tabla 4-10: Ensayo de permeabilidad de los biopolímeros

N.º	Tratamiento	Esesor	Repetición	Peso 1 (g)	Peso 2 (g)	Peso 3 (g)	Peso 4 (g)	Peso 5 (g)	Peso 6 (g)	Peso 7(g)
1	TBC-0	0,200	1	28,137	28,141	28,144	28,148	28,151	28,155	28,210
		0,100	2	28,239	28,242	28,246	28,249	28,253	28,257	28,313
		0,100	3	28,364	28,367	28,371	28,375	28,379	28,384	28,432
2	TBC-1	0,100	1	28,239	28,243	28,245	28,248	28,251	28,255	28,311
		0,200	2	30,494	31,497	30,499	30,501	30,502	30,507	30,564
		0,100	3	31,366	31,369	31,373	31,376	31,378	31,379	31,428
3	TBC-2	0,100	1	30,853	30,856	30,859	30,862	30,864	30,869	30,924
		0,100	2	30,481	30,484	30,487	30,490	30,492	30,494	30,543
		0,100	3	31,386	31,389	31,393	31,397	31,399	31,401	31,457
4	TBC-3	0,200	1	30,364	30,367	30,371	30,374	30,376	30,380	30,431
		0,100	2	30,692	30,695	30,699	30,702	30,702	30,717	30,769
		0,100	3	30,919	30,922	30,924	30,926	30,929	30,931	30,942
5	TBC-4	0,200	1	28,314	28,318	28,322	28,323	28,326	28,332	28,381
		0,100	2	30,719	30,722	30,728	30,732	30,735	30,738	30,793
		0,200	3	30,636	30,638	30,644	30,650	30,655	30,657	30,713
6	TBC-5	0,100	1	28,522	28,524	28,527	28,530	28,535	28,539	28,588
		0,200	2	30,575	30,577	50,581	30,583	30,584	30,585	30,639
		0,100	3	30,217	30,218	30,220	30,224	30,227	30,229	30,281
7	TBC-6	0,100	1	29,027	29,030	28,034	29,037	29,041	29,043	29,092
		0,200	2	30,572	30,574	30,578	30,581	30,583	30,587	30,634
		0,200	3	30,437	30,438	30,440	30,442	30,446	30,449	30,495

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

- Pruebas de biodegradabilidad

Las pruebas de biodegradabilidad se realizaron en tres entornos distintos: suelo, agua y medio ambiente. Con el fin de evaluar como evolucionaban las áreas de los biopolímeros a medida que avanzaban los días de degradación, se empleó el software Image J, el cual simplifica la medición de superficies y ofrece valores altamente precisos.

Los resultados de estas pruebas se representan en las siguientes tablas:

Tabla 4-11: Áreas de la biodegradabilidad en el ambiente

N.º	Tratamiento	Área inicial (cm ²)	Área día 3 (cm ²)	Área día 6 (cm ²)	Área día 9 (cm ²)	Área día 12 (cm ²)	Área día 15 (cm ²)
1	TBC-0	6,107	6,098	6,043	5,830	5,742	5,483
2	TBC-1	6,019	6,001	5,946	5,841	5,729	5,637
3	TBC-2	6,160	6,118	6,083	5,995	5,741	5,679
4	TBC-3	6,046	6,019	5,935	5,880	5,577	5,447
5	TBC-4	6,224	6,205	6,155	5,988	5,869	5,462
6	TBC-5	5,917	5,824	5,782	5,712	5,625	5,507
7	TBC-6	5,958	5,949	5,885	5,743	5,561	5,407

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Tabla 4-12: Áreas de la biodegradabilidad en el suelo

N.º	Tratamiento	Área inicial (cm ²)	Área Día 3 (cm ²)	Área día 6 (cm ²)	Área día 9 (cm ²)	Área día 12 (cm ²)	Área día 15 (cm ²)
1	TBC-0	7,890	7,521	7,302	7,004	6,537	5,572
2	TBC-1	8,139	7,969	7,037	6,456	6,398	4,649
3	TBC-2	7,407	7,403	7,108	7,009	6,837	6,075
4	TBC-3	7,919	7,708	7,530	7,212	7,164	6,517
5	TBC-4	8,087	7,955	7,517	7,407	7,142	7,096
6	TBC-5	8,071	8,061	7,862	7,793	6,955	6,450
7	TBC-6	7,744	7,336	7,036	6,824	6,683	6,114

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Tabla 4-13: Áreas de la biodegradabilidad en el agua

N.º	Tratamiento	Área inicial(cm ²)	Área día 2 (cm ²)	Área día 3 (cm ²)
1	TBC-0	6,125	7,884	8,029
2	TBC-1	6,149	8,195	8,838
3	TBC-2	6,715	6,791	9,125
4	TBC-3	5,912	6,821	8,381
5	TBC-4	6,068	7,554	8,042
6	TBC-5	7,095	7,599	8,305
7	TBC-6	6,53	8,454	9,518

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

La biodegradabilidad de los biopolímeros en el agua presenta un comportamiento distinto al de los otros medios, la superficie de los biopolímeros incrementa a medida que transcurren los días ocupando todo el espacio del recipiente en el que se llevó a cabo el ensayo. El incremento rápido del área se asume que es por la desintegración que sufren los componentes en la presencia del agua, más no la eliminación total del biopolímero. Por esta razón, solo se han tomado los datos de tres días.

4.1.5. Evaluación económica

4.1.5.1. Obtención del colágeno

Tabla 4-14: Suministros empleados

Proceso	N.º	Suministros	Cantidad	Costo insumo
Obtención de colágeno	1	Escamas	250 g	0
	2	Rennina	150 ml	4,050
	3	Agua	7000 ml	0,880
	4	NaOH	30 g	13,750
	5	CH ₃ COOH	30 ml	1,800
			Total	20,480

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.1.5.2. Obtención del óxido de grafeno

Tabla 4-15: Suministros empleados

Proceso	N.º	Suministros	Cantidad	Costo suministro
Obtención del óxido de grafeno en solución	1	Grafito	3 g	15,000
	2	H2SO4	70 ml	1,056
	3	HCl	5 ml	0,255
	4	Agua	650 ml	0,429
	5	KMnO4	9 g	3,271
	6	H2O2	30 ml	0,479
	7	Aceite	1000 ml	1,000
	8	Hielo	1 funda	0,74
	9	Caracterización del GO	Análisis	100
			Total	122,230

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.1.5.3. Obtención de celulosa

Tabla 4-16: Suministros empleados

Proceso	N.º	Suministros	Cantidad	Costo suministro
Obtención de celulosa	1	Papel reciclado	80 g	0
	2	NaOH	45 g	20,625
	3	NaClO	7 ml	0,255
	4	Agua	5000 ml	0,625
			Total	21,505

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.1.5.4. Elaboración del biopolímero

Tabla 4-17: Suministros empleados

Proceso	N.º	Suministros	Cantidad	Costo suministro
Elaboración de bioplástico	1	Colágeno	0,500 g	\$ 0,086
	2	Alcohol polivinílico	8,000 ml	\$0,194
	3	Glicerina	0,500 ml	\$ 0,005
	4	Agua	12,000 ml	\$ 0,013
	5	GO en solución	1,500 ml	\$ 0,073
			2,500 ml	\$ 0,122
	6	Celulosa	0,060 g	\$0.017
			0.120 g	\$0,034

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.2. Cálculos

4.2.1. Extracción del colágeno

4.2.1.1. Rendimiento de la harina de escamas de pescado

Para la determinación del rendimiento de la harina de escamas de pescado, se utiliza una ecuación que relaciona el peso de la harina de las escamas con el peso de la materia prima utilizada en la extracción, en este caso las escamas de pescado.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso de la harina de escamas de pescado}}{\text{Peso de la materia prima utilizada}} * 100$$

Ecuación 1-4: Rendimiento de la harina de escamas de pescado.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{152g}{250g} * 100$$

$$\% \text{Rendimiento} = 60,800 \%$$

4.2.1.2. Rendimiento del colágeno

Para evaluar el rendimiento del colágeno, se utiliza una ecuación que relaciona el peso del colágeno obtenido con el peso de la harina de escamas de pescado usado en el proceso.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso del colágeno obtenido}}{\text{Peso de la harina de escamas de pescado}} * 100$$

Ecuación 2-4: Rendimiento del colágeno.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{118,50g}{152g} * 100$$

$$\% \text{Rendimiento} = 77,960 \%$$

4.2.2. Síntesis del óxido de grafito

4.2.2.1. Rendimiento del óxido de grafito

Para evaluar el rendimiento del óxido de grafito, se utiliza una ecuación que vincula el peso del óxido obtenido con el peso de la materia prima utilizada en la síntesis, en este caso, el grafito.

Esta ecuación permite determinar la eficiencia del proceso y la cantidad de óxido de grafito producido.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso del óxido de grafito obtenido}}{\text{Peso de la materia prima utilizada}} * 100$$

Ecuación 3-4: Rendimiento del óxido de grafito.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{3,205 \text{ g}}{3 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{Rendimiento} = 106,833 \%$$

4.2.2.2. Rendimiento del óxido de grafeno

Para determinar el rendimiento del óxido de grafeno producido, se utiliza la siguiente ecuación que relaciona el peso del óxido producido con el peso del óxido de grafito empleado en el proceso.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso del óxido de grafeno obtenido}}{\text{Peso del óxido de grafito}} * 100$$

Ecuación 4-4: Rendimiento del óxido de grafeno.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{2,058 \text{ g}}{3,205 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{Rendimiento} = 64,212 \%$$

4.2.3. Extracción de la celulosa

4.2.3.1. Rendimiento de la celulosa

Para calcular el rendimiento de la celulosa obtenida, se utiliza la siguiente ecuación que relaciona el peso de la celulosa obtenida con el peso de la materia prima, en este caso es el papel reciclado.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso de la celulosa obtenida}}{\text{Peso del papel reciclado}} * 100$$

Ecuación 5-4: Rendimiento de la celulosa.

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{76,430 \text{ g}}{80,000 \text{ g}} * 100$$

$$\% \text{Rendimiento} = 95,537\%$$

4.2.4. Pruebas con el biopolímero

4.2.4.1. Porcentaje de humedad

Los cálculos de la humedad se llevaron a cabo con cada una de las repeticiones de cada tratamiento. Estos datos se basaron en la primera repetición del primer tratamiento. Se utilizó la ecuación 3-1. Los datos se pueden ver en la tabla 4-25.

$$\%Humedad = \frac{0,106 - 0,072}{0,106} * 100$$
$$\%Humedad = 31,657$$

4.2.4.2. Porcentaje de solubilidad

Los cálculos fueron llevados a cabo para determinar la solubilidad de cada una de las 3 repeticiones correspondientes a cada tratamiento. Estos cálculos se basaron en la primera repetición del primer tratamiento. Se utilizó la ecuación 3-2. Los datos se pueden observar en la tabla 4-26.

$$\%Solubilidad = \frac{0,072 - 0,027}{0,072} * 100$$
$$\%Solubilidad = 62,500 \%$$

4.2.4.3. Porcentaje de permeabilidad

Los cálculos se llevaron a cabo para determinar la permeabilidad en cada una de las 3 repeticiones de cada tratamiento. Para estos cálculos, se utilizaron los datos de la primera repetición del primer tratamiento. Se utilizó la ecuación 3-3. Los datos se pueden observar en la tabla 4-27.

$$WVP = \frac{(28,210 - 28,137)g * 0,2 \text{ mm}}{24h * 0,0028 \text{ MPa} * (75 - 0)}$$
$$WVP = 0,0028 \frac{g * mm}{h * MPa}$$

4.2.4.4. Porcentaje de biodegradabilidad

La biodegradabilidad se determinó en las 3 repeticiones de cada tratamiento. Para este cálculo se utilizaron los datos de la primera repetición del primer tratamiento. Se empleó la Ecuación 3-4. Los datos se pueden observar en la tabla 4-28.

$$\%Biodegradabilidad = \frac{6,107 - 5,483}{6,107} * 100$$
$$\%Biodegradabilidad = 10,218 \%$$

4.3. Resultados

4.3.1. Extracción del colágeno

4.3.1.1. Rendimiento de la harina de escamas de pescado

En la siguiente tabla, se detalla el resultado del rendimiento realizado para obtener la harina de escamas de pescado mediante los procesos de lavado, trituración, secado y tamizado.

Tabla 4-18: Resultados del rendimiento de la harina de escamas

No.	Producto	Tratamiento	Rendimiento promedio (%)
1	Harina de escamas de pescado	TH	60,800

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

La elaboración de harina de escamas de pescado se llevó a cabo utilizando métodos físicos que facilitan la separación de este componente de las escamas. El rendimiento obtenido fue del 60,800 %, este resultado fue similar ya que se acerca al porcentaje de rendimiento del 51.98% obtenido en un estudio previo de Burgos Muñoz et al. (2022, pág. 11).

4.3.1.2. Rendimiento del colágeno

A continuación, se presenta en una tabla el resultado del rendimiento realizado bajo un solo tratamiento para obtener colágeno de escamas de pescado mediante los procesos de tamizado, disolución ácida, hidrolizado y liofilizado.

Tabla 4-19: Resultados del rendimiento de colágeno

No.	Producto	Tratamiento	Rendimiento promedio (%)
1	Colágeno de escamas de pescado	TC	77,960

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Se llevó a cabo la extracción de colágeno de escamas de pescado utilizando métodos químicos y enzimáticos, que facilitan la separación de este componente de la harina de escamas. El rendimiento obtenido fue del 77,960 %. Este resultado se considera consistente ya que se acerca al porcentaje de rendimiento del 76,360 % obtenido en un estudio previo (Flores, 2017, pág. 51). Esto se debe a que se mantuvieron constantes los valores de volumen de agua, volumen de las soluciones, cantidad de materia prima, tiempo de incubación y liofilizado, los cuales se considerarán como las mejores condiciones para lograr el máximo aprovechamiento del colágeno obtenido.

4.3.1.3. Espectroscopía IR del colágeno

Las propiedades espectroscópicas son utilizadas en la caracterización, identificación y cuantificación de alguna molécula de interés, como en este caso el colágeno. La espectroscopia IR absorbe varias frecuencias de radiación electromagnética que causan estiramiento y doblamientos vibracionales de los enlaces covalentes de las moléculas, lo que permite determinar la presencia de grupos funcionales.

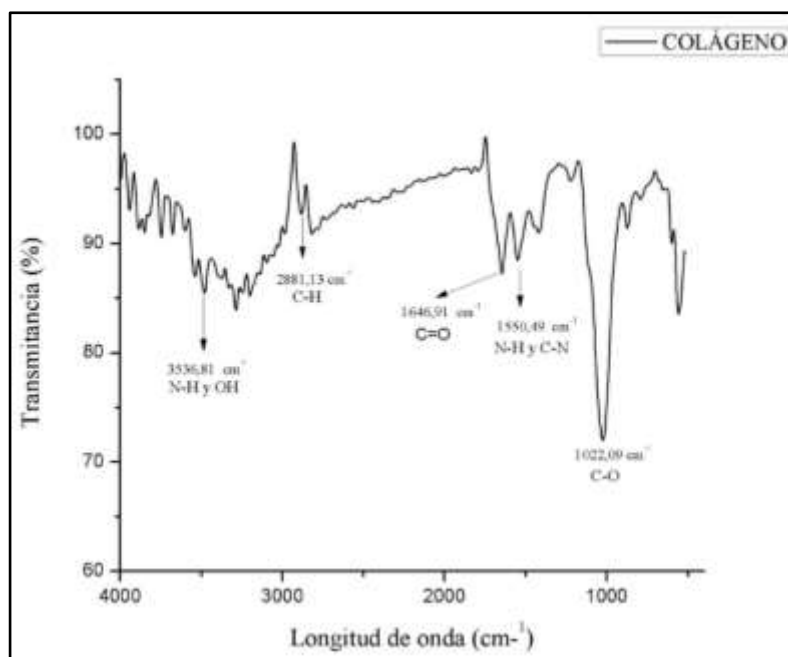


Ilustración 4-1: Espectro FT-IR del colágeno

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

En cuanto al espectro IR de colágeno presenta varias bandas características, en las que se mencionan: la presencia de grupos amina e hidroxilo ocasionado por los movimientos de estiramiento de los enlaces N-H y O-H aproximadamente en la región de $3536,81\text{ cm}^{-1}$, junto con vibraciones de enlaces C-H en la región de $2881,13\text{ cm}^{-1}$. También, presenta vibraciones de estiramiento debido a los enlaces peptídicos C=O (Amida I) alrededor de $1646,91\text{ cm}^{-1}$, además, las vibraciones de los enlaces de los grupos amida N-H y C-N en la región de $1550,49\text{ cm}^{-1}$ y finalmente en la región $1022,09\text{ cm}^{-1}$ se encuentra la presencia de las vibraciones de estiramiento asociadas a los enlaces C-O, tal como se observa en el gráfico 4-3.

Las regiones del espectro IR de colágeno concuerda con los valores que expone (Aibar, 2023, p. 42-43) al caracterizar el colágeno extraído de escamas de pescado en su investigación "Extracción de colágeno a partir de escamas de peces de río por hidrólisis mixta" confirmando la presencia de los grupos funcionales característicos del mismo.

4.3.2. Síntesis del óxido de grafeno

4.3.2.1. Rendimiento de óxido de grafito

Se realizó la oxidación del grafito mediante varias reacciones químicas, mismas que ocurrieron por la interacción de los reactivos utilizados, este proceso se llevó a cabo en un vaso de precipitación durante la experimentación.

Tabla 4-20: Rendimiento del óxido de grafito

Producto	Rendimiento (%)
Óxido de grafito	106,833

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Durante la oxidación del grafito, se producen cambios en la materia a nivel molecular. Según Yapu et al. (2013, pp. 156-157), se observa una modificación en la hibridación del carbono de sp² a sp³. Además, se observa un mayor espaciado entre las capas estructurales del grafito debido a la presencia de grupos funcionales como los carboxílicos y fenólicos. Estos cambios en la hibridación y el distanciamiento de capas provocan un aumento en el peso del óxido de grafito en comparación con la materia prima original. Como resultado, se obtiene un rendimiento mayor al 100%.

4.3.2.2. Rendimiento de óxido de grafeno

Durante la obtención del óxido de grafeno, se realizaron lavados utilizando una solución de ácido clorhídrico en una proporción de 1:10, seguido de enjuagues con agua destilada para ajustar el pH de la solución. Estos lavados se realizaron utilizando una centrífuga de tubos falcón.

Tabla 4-21: Rendimiento del óxido de grafeno

Producto	Rendimiento (%)
Óxido de grafeno	64,212

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

El rendimiento del óxido de grafeno obtenido es del 64,212%, causado por la disminución del peso obtenido de óxido de grafito respecto a la cantidad inicial empleada. De acuerdo con Farías et al. (2017, págs. 3-6), esta disminución de peso se debe a una reacción de separación durante la oxidación del grafito, la cual aleja las capas externas del óxido de grafito que contienen átomos de carbono. Además, esta reacción también excluye los grupos funcionales que se van agregando en las capas externas del óxido. Como consecuencia, las capas internas ya no incluyen los grupos funcionales y corresponden al grafito sin exfoliarse completamente. La exclusión de los grupos resulta un material con una red cristalina compuesta por una delgada capa, con solo un átomo de espesor (Farías et al., 2017). Este hallazgo se confirmó en la experimentación, donde se obtuvo una lámina de grafeno muy delgada que dificultaba su remoción del pyrex después del secado.

4.3.2.3. Espectroscopía UV-Visible del óxido de grafeno

La espectroscopia UV- visible implica la absorción de la radiación ultravioleta-visible por una molécula para determinar la composición y concentración de una sustancia. La espectroscopia del óxido de grafeno sintetizado fue confirmada mediante el análisis realizado con el equipo Thermo Scientific del laboratorio de investigación de la facultad de ciencias de la ESPOCH, a través del estudio de sus picos que caracterizan al compuesto.

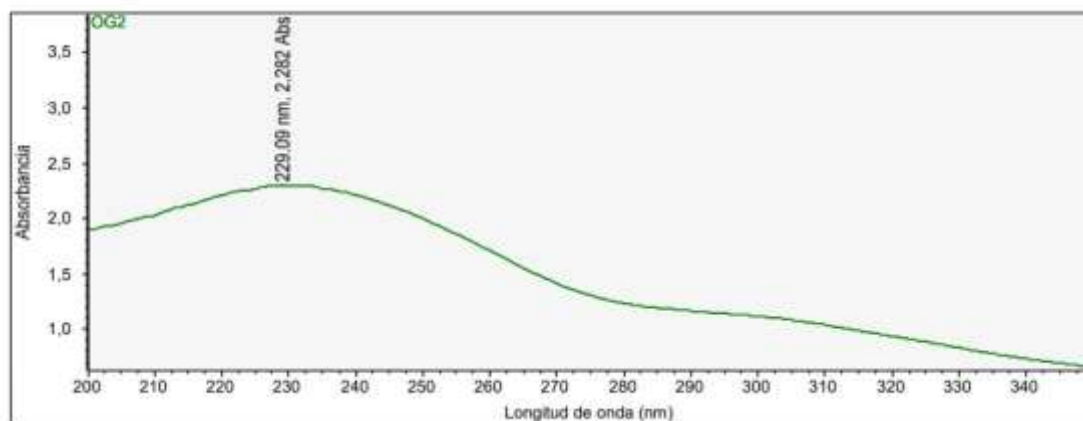


Ilustración 4-2: UV-Visible del óxido de grafeno

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Según Skoog (2015, pág. 723), la absorción de radiación en moléculas orgánicas en la región de la longitud de onda entre 180 y 780 nm es el resultado de la interacción entre fotones y electrones que participan directamente en la formación de enlaces. En la Ilustración 4-2 se puede observar que el pico máximo de absorción para el óxido de grafeno presenta una longitud de onda de 229 nm, causada por los enlaces aromáticos dobles de carbono, asociados a un $\pi \rightarrow \pi^*$ transiciones.

4.3.2.4. Espectroscopía IR del óxido de grafeno y grafito

En la espectroscopía del Ilustración 4-3 se puede apreciar los principales modos de vibración del óxido de grafeno, muestra una absorción característica en la región de $3158,83 \text{ cm}^{-1}$ debido a una acción de estiramiento del grupo hidroxilo (O-H), en el punto de absorción de $3019,98 \text{ cm}^{-1}$ a $2869,56 \text{ cm}^{-1}$ se muestra la presencia de grupos alquilo debido a los estiramientos simétricos y asimétricos de los enlaces C-H, por otra parte, en la región de $1592,91 \text{ cm}^{-1}$ hace referencia al grupo alqueno (C=C), además se puede evidenciar enlaces C-O de $1400,07 \text{ cm}^{-1}$ a $1083,8 \text{ cm}^{-1}$ asociados a la presencia de grupos éter y epóxidos. Finalmente, en la región de $593,968 \text{ cm}^{-1}$ es atribuida a las vibraciones de flexión de los enlaces C-O-C de los grupos éter.

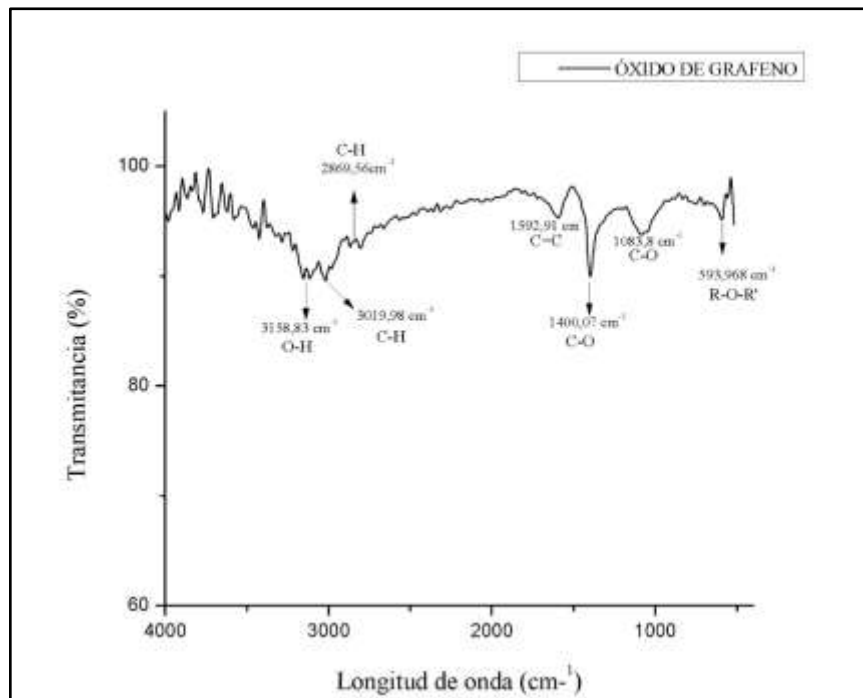


Ilustración 4-3: Espectro FT-IR del óxido de grafeno

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Por otra parte, en el espectro IR del grafito se aprecia en la región de $2923,56\text{ cm}^{-1}$ la presencia de pequeñas vibraciones, mismas que son provocadas por el ruido presente en la medición, lo cual indica que no existe la presencia de otros grupos funcionales y garantiza la pureza del grafito debido a que está compuesto aproximadamente por el 99 % de carbono, como se aprecia en las regiones de $1049,09\text{ cm}^{-1}$ y $551,542\text{ cm}^{-1}$

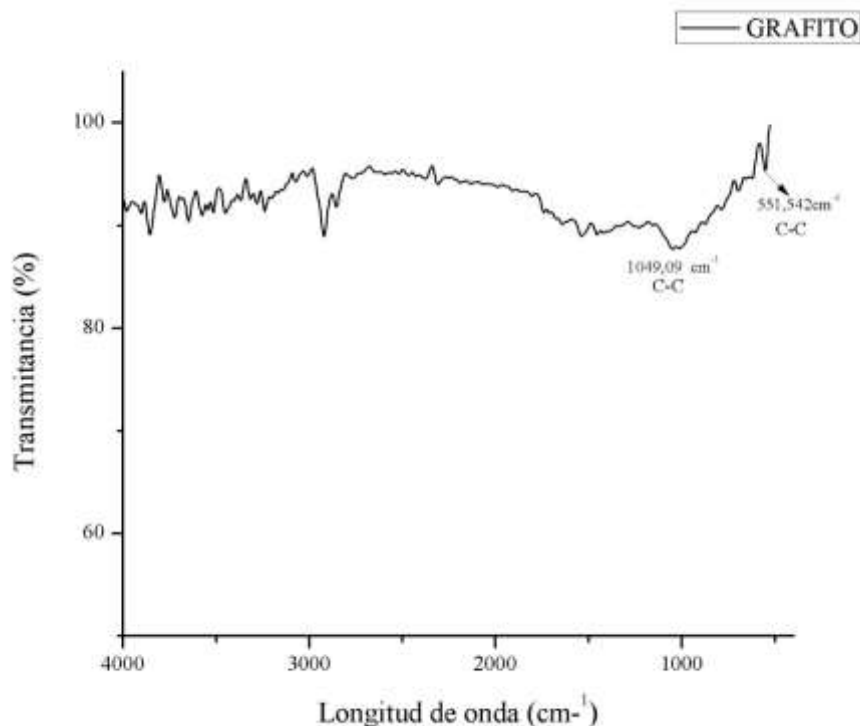


Ilustración 4-4: Espectro FT-IR del grafito

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.3.2.5. Rendimiento de la celulosa

La celulosa se obtuvo a partir de papel reciclado, proceso que cuenta con dos etapas químicas: la primera el tratamiento alcalino donde se separan las fibras del papel con ayuda de NaOH y la segunda con la aplicación de NaClO que permite el blanqueamiento de las fibras, por último, la muestra fue sometida a tratamiento mecánico con ayuda del sonicador de punta.

Tabla 4-22: Rendimiento de la celulosa

Producto	Rendimiento (%)
Celulosa	95,537

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

De acuerdo a Sanaguano (2021, pág. 30) en su investigación “ Obtención de nanocelulosa a partir de la hoja de mazorca de maíz (zea mays l.) mediante el proceso de hidrólisis ácida” obtuvo un rendimiento de 38,940 % a una concentración de 5% de NaOH, en el caso de la celulosa de papel reciclado se modificó la concentración del NaOH al 7% mostrando mejores resultados en su rendimiento con un 95,537 % que corresponde al contenido de celulosa residual después de aplicar los tratamientos necesarios.

4.3.2.6. Espectroscopía IR de la celulosa

El espectro IR de la Ilustración 4-5 nos indica que el compuesto obtenido es celulosa, esto gracias a la presencia de algunos grupos funcionales característicos en ciertas regiones, como las vibraciones a $3336,25\text{ cm}^{-1}$ se debe a la presencia de grupos hidroxilo (-OH), comunes en polisacáridos como la celulosa. La banda en la región de $2881,13\text{ cm}^{-1}$ muestra vibraciones de enlaces C-H, la región de $1685,48\text{ cm}^{-1}$ revela vibraciones asociadas con enlaces C-O y C-C, mientras que la banda a $1029,8\text{ cm}^{-1}$ sugiere enlaces C-O adicionales. Por último, la banda a $583,820\text{ cm}^{-1}$, más baja en número de onda, está relacionada con la deformación de enlaces C-H y podría indicar la presencia de estructuras más complejas.

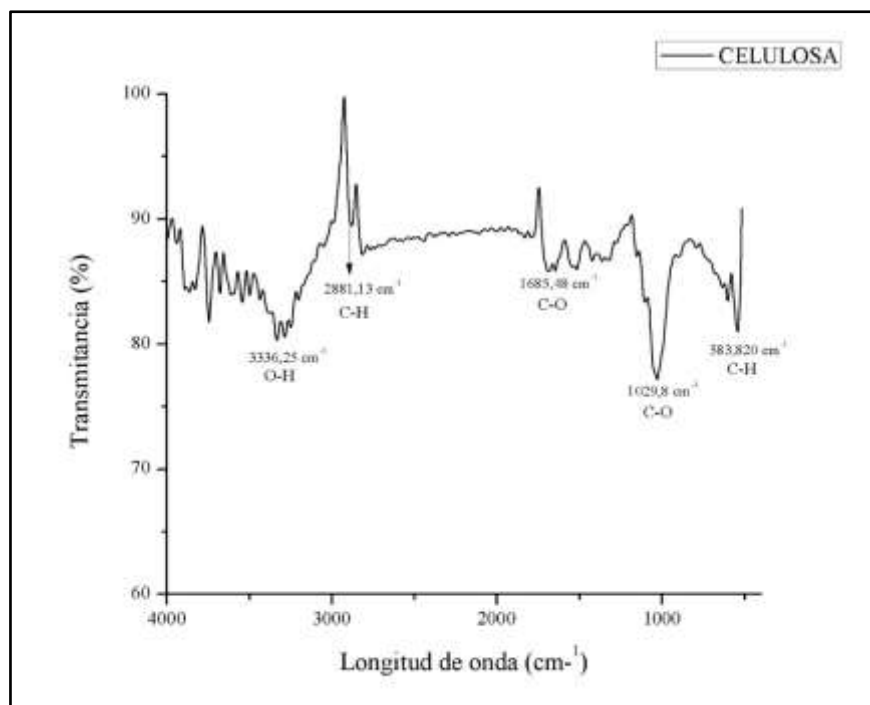


Ilustración 4-5: Espectro FT-IR de la celulosa

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.3.3. Ensayos con el biopolímero

4.3.3.1. Análisis sensorial realizado

En la siguiente tabla se muestran los resultados del análisis sensorial realizados una vez obtenidos los biopolímeros de cada tratamiento.

Tabla 4-23: Análisis sensorial

N.º	Tratamiento	Características			
		Color	Textura	Flexibilidad	Resistencia
1	TBC-0	Blanco transparente	Rugosa	Flexible	Fuerte
2	TBC-1	Blanco transparente	Rugosa	Poco flexible	Fuerte
3	TBC-2	Marrón oscuro	Rugosa	Flexible	Fuerte
4	TBC-3	Marrón oscuro	Rugosa	Flexible	Fuerte
5	TBC-4	Blanco, opaco	Rugosa	Poco flexible	Fuerte
6	TBC-5	Oscuro, casi negro	Rugosa	Flexible	Fuerte
7	TBC-6	Oscuro, opaco	Rugosa	Flexible	Fuerte

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

De acuerdo a los resultados que se presenta en la tabla 4-23 se puede decir que la incorporación del óxido de grafeno incide en el cambio de coloración de los biopolímeros conforme aumenta el volumen del mismo, esto se puede apreciar en los tratamientos 2,3,5, y 6. En el caso de la adición de la celulosa los tratamientos toman una tonalidad blanco transparente y en el caso del tratamiento 4 dando una apariencia blanco opaco. Por otra parte, presentan una textura rugosa en todos los tratamientos, causada por la presencia del colágeno y celulosa. En cuanto a la flexibilidad todos los tratamientos son flexibles excepto el 2 y 4 que son poco flexibles y finalmente en cuanto a la resistencia presentan buenos resultados.

4.3.3.2. Promedio del espesor del biopolímero

Tabla 4-24: Resultados promediados del espesor

N.º	Tratamiento	Espesor promedio (mm)
1	TBC-0	0,133
2	TBC-1	0,147
3	TBC-2	0,133
4	TBC-3	0,160
5	TBC-4	0,173
6	TBC-5	0,147
7	TBC-6	0,173

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

En los ensayos de espesor se obtuvieron los promedios de las 5 mediciones realizadas en diferentes regiones de cada tratamiento, obteniendo que los tratamientos que presentan menor espesor promedio son el TBC-0 y el TBC-2 con 0,133 mm, en cambio el tratamiento TBC-6 tiene mayor espesor promedio con un valor de 0,173. Cada tratamiento mantiene un espesor dentro del rango de 0,1 a 0,2 mm valores que se encuentran dentro de los parámetros de la norma NTE INEN 2542. Además Chifla (2022, pág. 48) menciona en su investigación que el espesor de los biopolímeros depende de su composición y la cantidad de plastificante empleado. Por esta razón, el tratamiento TBC-6 presenta un mayor espesor.

4.3.3.3. Promedio de humedad del biopolímero

Tabla 4-25: Resultados promediados de la humedad

N.º	Tratamiento	Humedad promedio (%)
1	TBC-0	31,657
2	TBC-1	34,051
3	TBC-2	33,614
4	TBC-3	30,041
5	TBC-4	31,831
6	TBC-5	42,781
7	TBC-6	46,317

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

De acuerdo con Wang et al. (2013, págs. 37-38), las láminas de biopolímero deben contener un porcentaje de humedad de 25,95 a 42,71 %, por lo tanto, todos los tratamientos mencionados en la tabla 4-25 se encuentran dentro del rango, excepto el tratamiento TBC 6 que contiene un valor de 46,317%. Esta diferencia de valores corresponde a la composición química de cada biopolímero menciona (Trujillo, 2014, pág. 69) en su investigación, estableciendo como máximo un porcentaje de humedad entre 42,34 y 60,54%.

4.3.3.4. Promedio de solubilidad del biopolímero

Tabla 4-26: Resultados promediados de la solubilidad

N.º	Tratamiento	Solubilidad promedio (%)
1	TBC-0	66,992
2	TBC-1	74,524
3	TBC-2	85,135

4	TBC-3	77,285
5	TBC-4	80,078
6	TBC-5	63,460
7	TBC-6	68,561

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Después de realizar el ensayo de solubilidad se puede argumentar que todos los tratamientos son altamente solubles, el tratamiento que presenta menor solubilidad es el TBC-5 con un valor de 63,460% y el que tiene un mayor promedio de solubilidad es el TBC-2 con un valor de 85,135%. Se supone que la solubilidad de estos biopolímeros varía de acuerdo a la proporción de cada componente y las condiciones específicas en las que fue elaborado.

4.3.3.5. Promedio de la permeabilidad del bioplástico

Tabla 4-27: Resultados promediados del ensayo de permeabilidad

N.º	Tratamiento	Permeabilidad promedio ($\frac{g*mm}{h*MPa}$)
1	TBC-0	0,00190
2	TBC-1	0,00181
3	TBC-2	0,00135
4	TBC-3	0,00155
5	TBC-4	0,00239
6	TBC-5	0,00128
7	TBC-6	0,00202

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Según Issaadi et al (2016, págs. 2-12) en su investigación demostró que la aplicación del óxido de grafeno en las biopelículas, permite una disminución de la permeabilidad de los gases debido a que actúa como una barrera, por tanto en los tratamientos TBC-2 de 0,00135 y en el TBC-5 de 0,00128 se corrobora esta información. En cuanto a los tratamientos TBC-3 y TBC-6 se evidencia un aumento de permeabilidad a pesar de tener la presencia del óxido de grafeno, a consecuencia de los demás componentes en su estructura.

Por último, los demás tratamientos al no contar con óxido de grafeno en su composición permite que el plastificante disminuya las fuerzas intermoleculares en las cadenas del polímero, dando una mayor movilidad molecular, aumentando su permeabilidad al vapor de agua (Joaqui y Villada, 2013, pág. 63).

4.3.3.6. Biodegradabilidad del biopolímero

Tabla 4-28: Porcentaje de biodegradabilidad en tres medios

N.º	Tratamiento	Biodegradabilidad		
		Ambiente	Suelo	Agua
1	TBC-0	10,218	29,379	31,086
2	TBC-1	6,347	42,880	43,731
3	TBC-2	7,808	17,983	35,890
4	TBC-3	9,907	17,704	41,763
5	TBC-4	12,243	12,254	32,531
6	TBC-5	6,929	20,084	17,054
7	TBC-6	9,248	21,049	45,758

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

De acuerdo al estudio de biodegradabilidad realizado en tres entornos diferentes, se obtuvieron los siguientes resultados, en el ambiente el tratamiento TBC-4 presentó una mayor biodegradación con un 12, 243% y el menor fue el TBC-1 con 6,347%. Por otra parte, los biopolímeros que se encuentran en el suelo el tratamiento TBC-1 mostró mayor porcentaje de biodegradabilidad con un 42,880% y en el caso de menor el TBC-4 con un 12,254%.

Finalmente, la biodegradación en el agua presentó un mayor porcentaje en el tratamiento TBC -6 con un 45,758% y el menor de los porcentajes registrados corresponde al TBC-5, esto se les atribuye a las características de la celulosa.

4.3.3.7. Pruebas de tracción con el biopolímero

- Formulación del biopolímero con sus aditivos

Utilizando los ensayos de tracción, se obtuvieron los datos que se presentan en la tabla siguiente, junto con las repeticiones de cada tratamiento.

Tabla 4-29: Pruebas de tracción del biopolímero

Producto	N.º	Tratamientos	Carga máxima (N)	Desplazamiento máximo (mm)	Esfuerzo máximo (MPa)	Máxima deformación (%)	Rotura de carga (N)
	1	TBC-0	4,547	37,685	2,102	89,750	3,248
Biopolímero de colágeno de escamas de pescado con aditivos.	2	TBC-1	4,179	11,622	2,949	29,415	1,954
	3	TBC-2	3,978	54,889	2,760	125,094	3,069
	4	TBC-3	6,268	34,631	4,649	75,207	3,366
	5	TBC-4	6,137	7,293	4,248	16,030	2,665
	6	TBC-5	3,980	36,973	2,810	81,460	2,671
	7	TBC-6	4,678	13,002	3,524	29,935	3,289

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

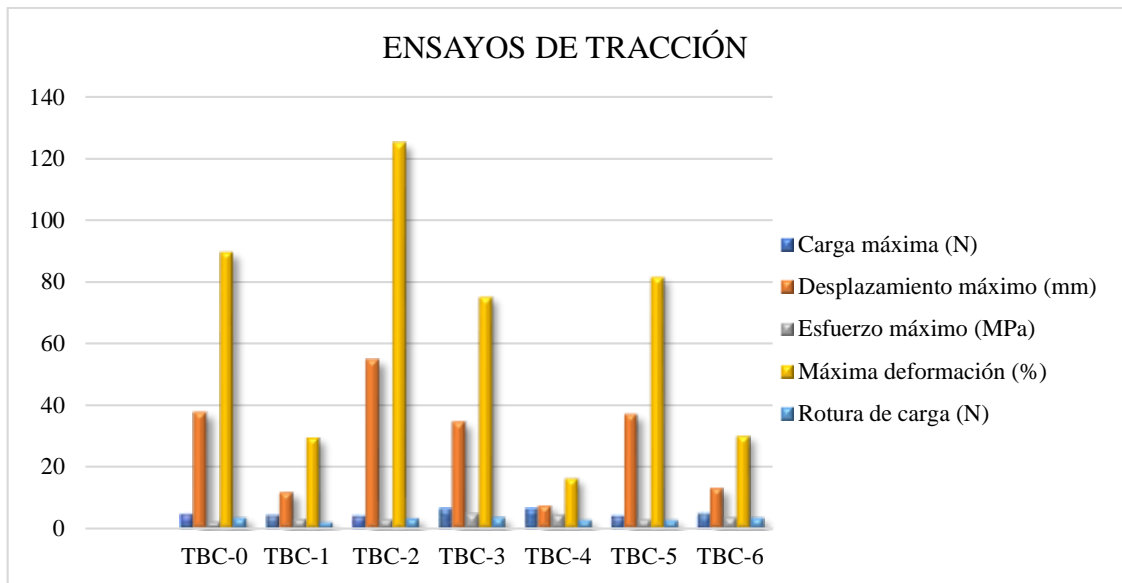


Ilustración 4-6: Ensayos de tracción de los biopolímeros con celulosa y oxido de grafeno

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Los resultados de los ensayos de tracción indican que el tratamiento TBC-3 tiene una carga máxima con un valor promedio de 6,268 N, mientras que el tratamiento TBC-5 registra un promedio mínimo de 3,980 N. Por otra parte, en el desplazamiento máximo el tratamiento TBC-2 es el que registra un mayor promedio con un valor de 54,889 mm, a la vez que el desplazamiento mínimo tiene el tratamiento TBC-4 con un promedio de 7,293 mm, en el caso del esfuerzo máximo el tratamiento TBC-3 con 4,649 MPa registra el promedio máximo y el tratamiento TBC-2 el menor promedio con un valor de 2,760 MPa, en relación a la propiedad de máxima deformación el tratamiento TBC-2 tiene un máximo valor de 125,415%, mientras que el tratamiento TBC-4 presenta la deformación mínima con un registro de 16,030%, y por ultimo con la propiedad de rotura de carga el tratamiento TBC-3 presenta un valor máximo de 3,366 N y el tratamiento TBC-1 un valor mínimo de 1,954 N.

4.3.3.8. Evaluación de variabilidad de un factor de las pruebas de tracción del biopolímero

- *Varianza de las características mecánicas*

Se empleó la herramienta de InfoStat para llevar a cabo el análisis de varianza y determinar la variabilidad que existe en una variable específica, la cual está asociada con las características mecánicas del biopolímero.

- *ANOVA para la carga máxima*

Tabla 4-30: Estudio de variabilidad para la carga máxima

Fuente de Variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F	p-valor
Modelo	17,25	6	2,88	5,71	0,0035
Tratamiento	17,25	6	2,88	5,71	0,0035
Error	7,05	14	0,5		
Total	24,3	20			

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

De acuerdo a los datos de la tabla anterior, la probabilidad establecida para la carga máxima es de 0,0035 valor que se sitúa por debajo del nivel alfa de 0,05, lo que indica que hay diferencias estadísticamente significativas en el promedio. En consecuencia, la siguiente tabla se muestra los resultados del análisis de Tukey.

- *Prueba Tukey para la carga máxima*

Tabla 4-31: Prueba Tukey para la carga máxima

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
TBC-3	6,27	3	0,41	A		
TBC-4	6,14	3	0,41	A	B	
TBC-6	4,68	3	0,41	A	B	C
TBC-0	4,55	3	0,41	A	B	C
TBC-1	4,18	3	0,41		B	C
TBC-5	3,98	3	0,41			C
TBC-2	3,98	3	0,41			C

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Los resultados del análisis de la tabla anterior, indica que el tratamiento TBC-5 y TBC-2 que se encuentran en el grupo C son estadísticamente diferentes al tratamiento TBC-3, debido a lo cual no debe ser considerado como la mejor opción. A continuación, en la Ilustración 4-7 se presentan los valores correspondientes a las medias de cada tratamiento obtenido.

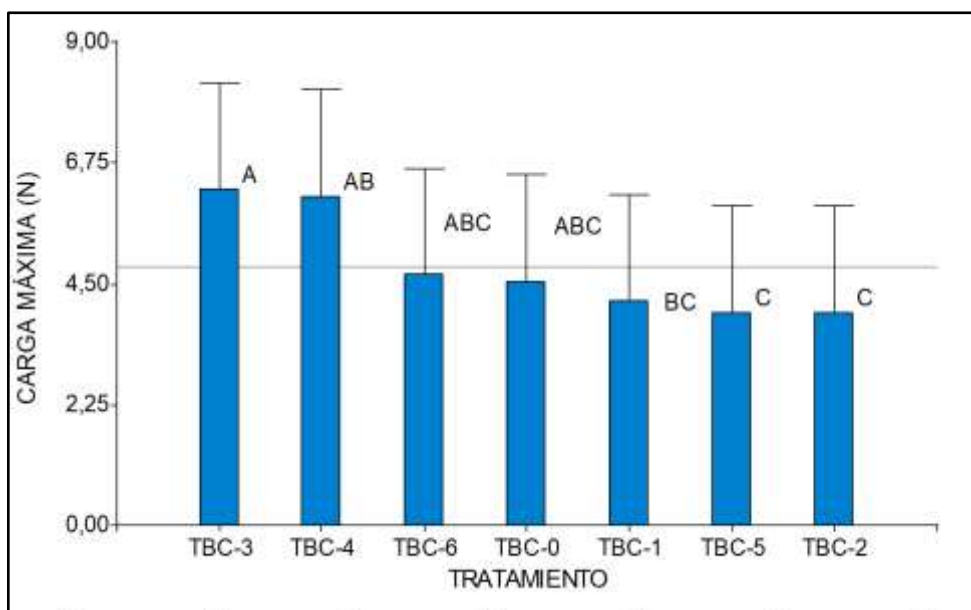


Ilustración 4-7: Resultados de la prueba Tukey para la carga máxima

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

- ANOVA para el desplazamiento máximo

Tabla 4-32: Estudio de variabilidad para el desplazamiento máximo

Fuente de Variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F	p-valor
Modelo	5589,86	6	931,64	10,3	0,0002
Tratamiento	5589,86	6	931,64	10,3	0,0002
Error	1266,9	14	90,49		
Total	6856,75	20			

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

En el análisis de la tabla anterior se encontró que la probabilidad es de 0,0002 valor que es menor al margen de 0,05, lo que indica la presencia de diferencias estadísticamente significativas en el promedio del desplazamiento máximo. Por tal razón, se realizó una prueba de Tukey que se evidencia en la siguiente tabla.

- Prueba Tukey para el desplazamiento máximo

Tabla 4-33: Prueba Tukey para el desplazamiento máximo

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
TBC-2	54,89	3	5,49	A	
TBC-0	37,69	3	5,49	A	B
TBC-5	36,97	3	5,49	A	B
TBC-3	34,63	3	5,49	A	B
TBC-6	13	3	5,49		B C
TBC-1	11,62	3	5,49		B C
TBC-4	7,29	3	5,49		C

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Conforme a los resultados del análisis de Tukey realizado, se determina que el tratamiento TBC-4 perteneciente al grupo C es estadísticamente diferente al tratamiento TBC-2, por tanto, no debe ser considerado como la mejor opción para el desplazamiento máximo. En la Ilustración 4-8, se detalla los valores correspondientes a las medias de cada tratamiento obtenido.

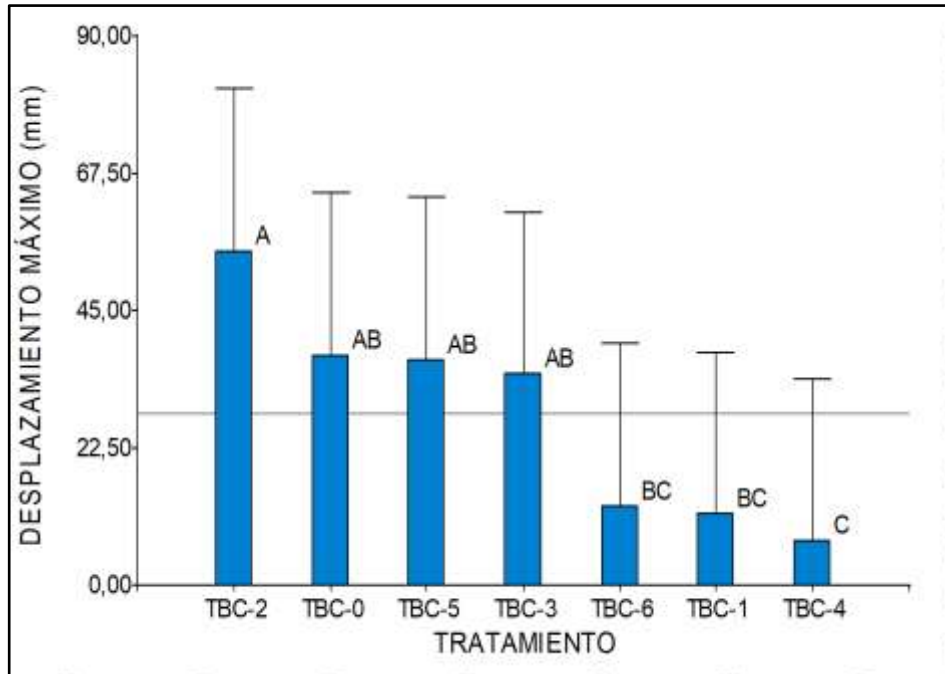


Ilustración 4-8: Resultados de la prueba Tukey para el desplazamiento máximo

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

- ANOVA para el esfuerzo máximo

Tabla 4-34: Estudio de variabilidad para el esfuerzo máximo

Fuente de Variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F	p-valor
Modelo	14,58	6	2,43	3,73	0,0198
Tratamiento	14,58	6	2,43	3,73	0,0198
Error	9,11	14	0,65		
Total	23,69	20			

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

En el análisis de la tabla anterior se encontró que la probabilidad es de 0,0198 valor que es menor al margen de 0,05, lo cual indica que existen diferencias significativas en el promedio del desplazamiento máximo. Por tal razón, se realizó un análisis de Tukey que se presenta en la siguiente tabla.

- Prueba Tukey para varianza del esfuerzo máximo

Tabla 4-35: Prueba Tukey para varianza del esfuerzo máximo

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
TBC-3	4,65	3	0,47	A	
TBC-4	4,25	3	0,47	A	B
TBC-6	3,52	3	0,47	A	B
TBC-1	2,95	3	0,47	A	B
TBC-5	2,81	3	0,47	A	B
TBC-2	2,76	3	0,47	A	B
TBC-0	2,1	3	0,47		B

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Según los resultados de la prueba de Tukey realizado determina que el tratamiento TBC-0 es estadísticamente diferente al tratamiento TBC-3, en consecuencia, no debe ser tomado en cuenta como la mejor opción en relación al esfuerzo máximo. En la Ilustración 4-9, se muestran los valores correspondientes a las medias de cada tratamiento obtenido.

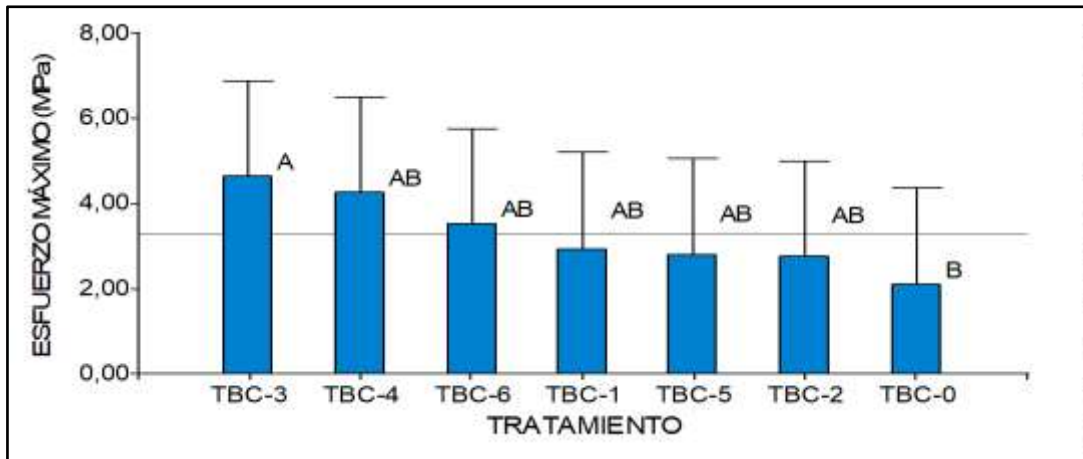


Ilustración 4-9: Resultados de la prueba Tukey para el esfuerzo máximo

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

- ANOVA para la máxima deformación

Tabla 4-36: Estudio de variabilidad para la máxima deformación

Fuente de Variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F	p-valor
Modelo	28450,34	6	4741,72	9,84	0,0002
Tratamiento	28450,34	6	4741,72	9,84	0,0002
Error	6743,4	14	481,67		
Total	35193,74	20			

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

En el análisis ANOVA, respecto a la máxima deformación, nos indica que la probabilidad es de 0,0002 valor inferior al margen del alfa 0,05, lo que significa la presencia de diferencias estadísticamente significativas en el promedio. Por tanto, en la siguiente tabla se muestra los resultados de la prueba de Tukey.

- Prueba Tukey para la máxima deformación

Tabla 4-37: Prueba Tukey para la máxima deformación

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
TBC-2	125,09	3	12,67	A	
TBC-0	89,75	3	12,67	A	B

TBC-5	81,46	3	12,67	A	B	
TBC-3	75,21	3	12,67	A	B	C
TBC-6	29,93	3	12,67		B	C
TBC-1	29,42	3	12,67		B	C
TBC-4	16,03	3	12,67			C

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

De acuerdo, a la clasificación de Tukey, se pudo determinar que el tratamiento TBC-4 es estadísticamente diferente al tratamiento TBC-2, sin embargo, es similar al resto de tratamientos, aunque no presente un buen rendimiento en cuanto a la máxima deformación. En la Ilustración 4-10, se indican los valores correspondientes a las medias de cada tratamiento obtenido.

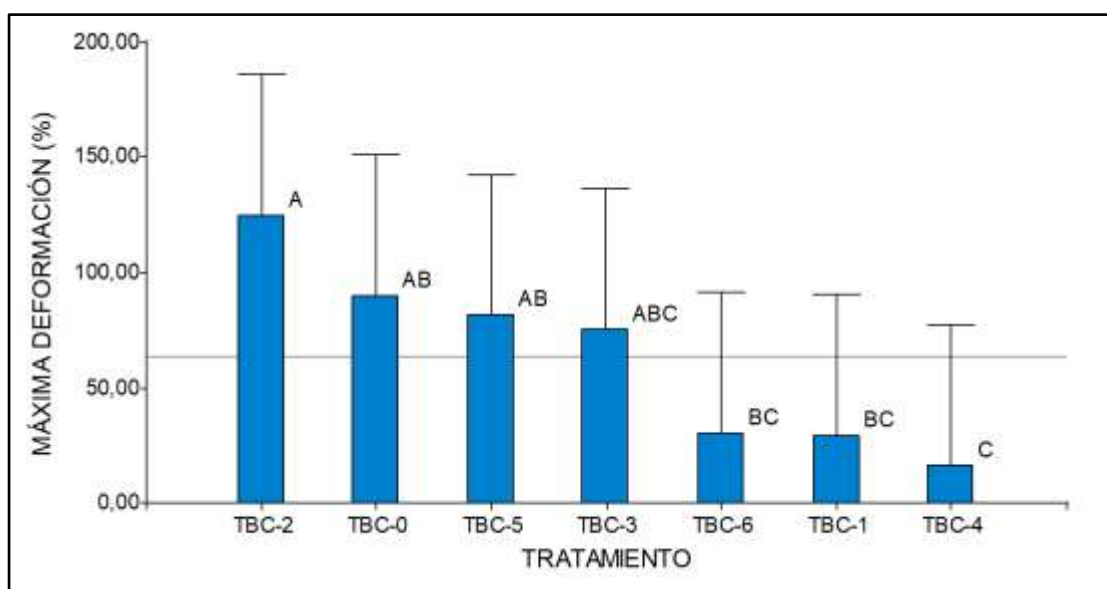


Ilustración 4-10: Resultados de la prueba Tukey para la máxima deformación

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

- ANOVA para la rotura de carga

Tabla 4-38: Estudio de variabilidad para la rotura de carga

Fuente de Variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F	p-valor
Modelo	5,94	6	0,99	1,19	0,3645
Tratamiento	5,94	6	0,99	1,19	0,3645
Error	11,61	14	0,83		
Total	17,55	20			

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

En el análisis ANOVA, respecto a la rotura de carga, nos indica que la probabilidad es de 0,3645 valor mayor al rango de alfa 0,05 propuesto en el estudio. Esto sugiere que cualquier valor de estos puede considerarse para la elección de un tratamiento óptimo, dado que no existen diferencias significativas entre las medias. En la Ilustración 4-11, se indican los valores correspondientes a las medias de cada tratamiento obtenido.

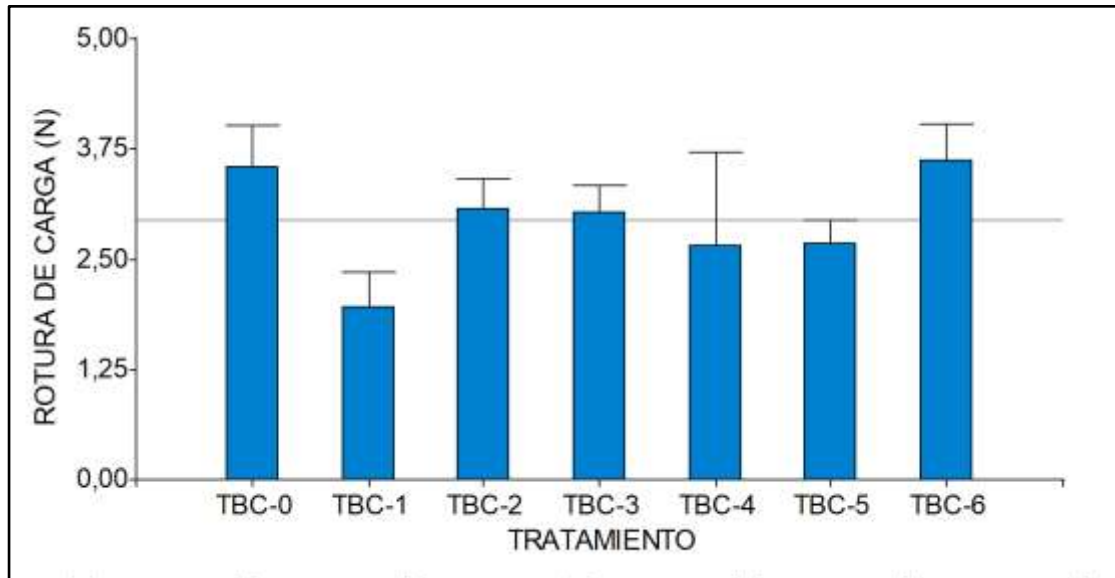


Ilustración 4-11: Resultados del análisis ANOVA para la rotura de carga

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.3.3.9. Espectroscopía IR de comparación de los biopolímeros obtenidos

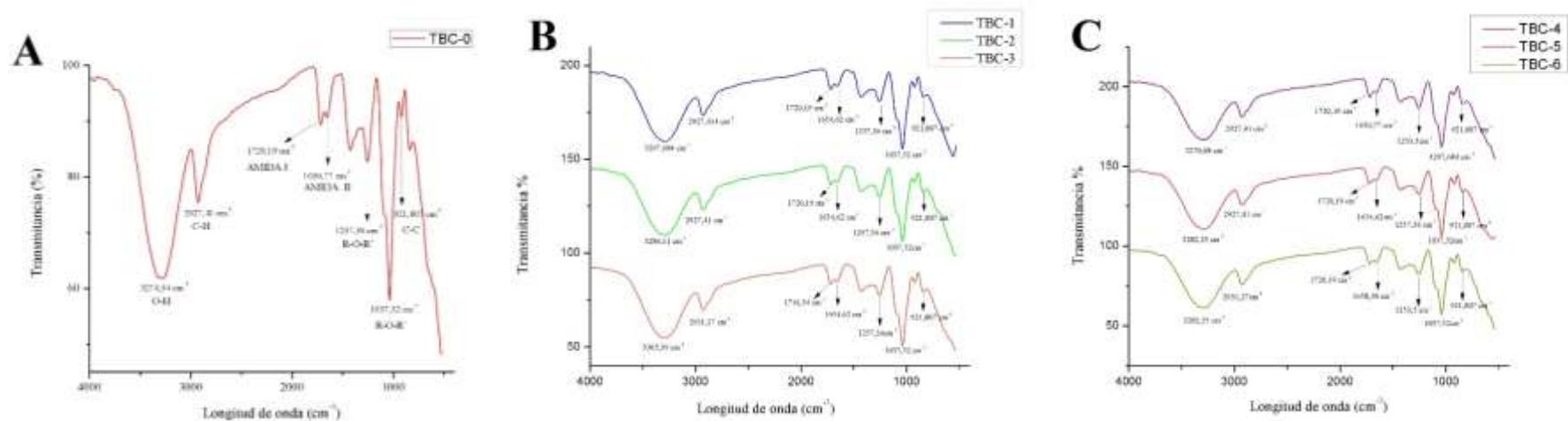


Ilustración 4-12: Espectroscopía IR de los biopolímeros: a) TBC-0, b) TBC-1, TBC-2, TBC-3, c) TBC-4, TBC-5 y TBC-6.

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

En los espectros IR de los biopolímeros realizados, se puede observar que todos los tratamientos presentan similitudes en cuanto a las vibraciones de los enlaces químicos presentes en la matriz (Ilustración 4-12 a), ya que las regiones características de cada tratamiento son muy cercanas, esto se puede evidenciar en gráfico 7-4 b, c. Las principales bandas de estos espectros incluyen vibraciones de estiramiento ocasionado por los grupos hidroxilo (O-H) en la región de 3274,54 cm^{-1} . De igual manera, existe la presencia de grupos metilo (-CH) presentes en el colágeno y la celulosa aproximadamente en 2927,41 cm^{-1} . También, se evidencia la presencia de vibraciones en los enlaces carbonilo (C=O) de los grupos amida I y amida II en las regiones de 1720,19 cm^{-1} y 1650,77 cm^{-1} confirmando la presencia de colágeno en el biopolímero. Por otra parte, las vibraciones características de los enlaces C-O-C (Éter) en la región de 1257,36 cm^{-1} a 1037,52 cm^{-1} presumen la presencia de la celulosa y óxido de grafeno en los tratamientos. Por último, las vibraciones de los enlaces C=C en la región de 921,607 cm^{-1} sugieren la presencia de estructuras aromáticas debido al, óxido de grafeno.

4.3.3.10. Análisis morfológico por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM) de los biopolímeros obtenidos

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es una herramienta que produce imágenes de alta calidad a través de un haz de electrones, mediante este análisis se examinó la morfología de cada uno de los biopolímeros elaborados, lo cuales presentaron características como rugosidad a escala macroscópica como microscópica. Además, con el estudio de la caracterización química del material (EDS) se identificó la composición química de los biopolímeros. La cuantificación por EDS muestra los elementos químicos: C, O, Ca, Al, elementos constituyentes de la materia prima utilizada.

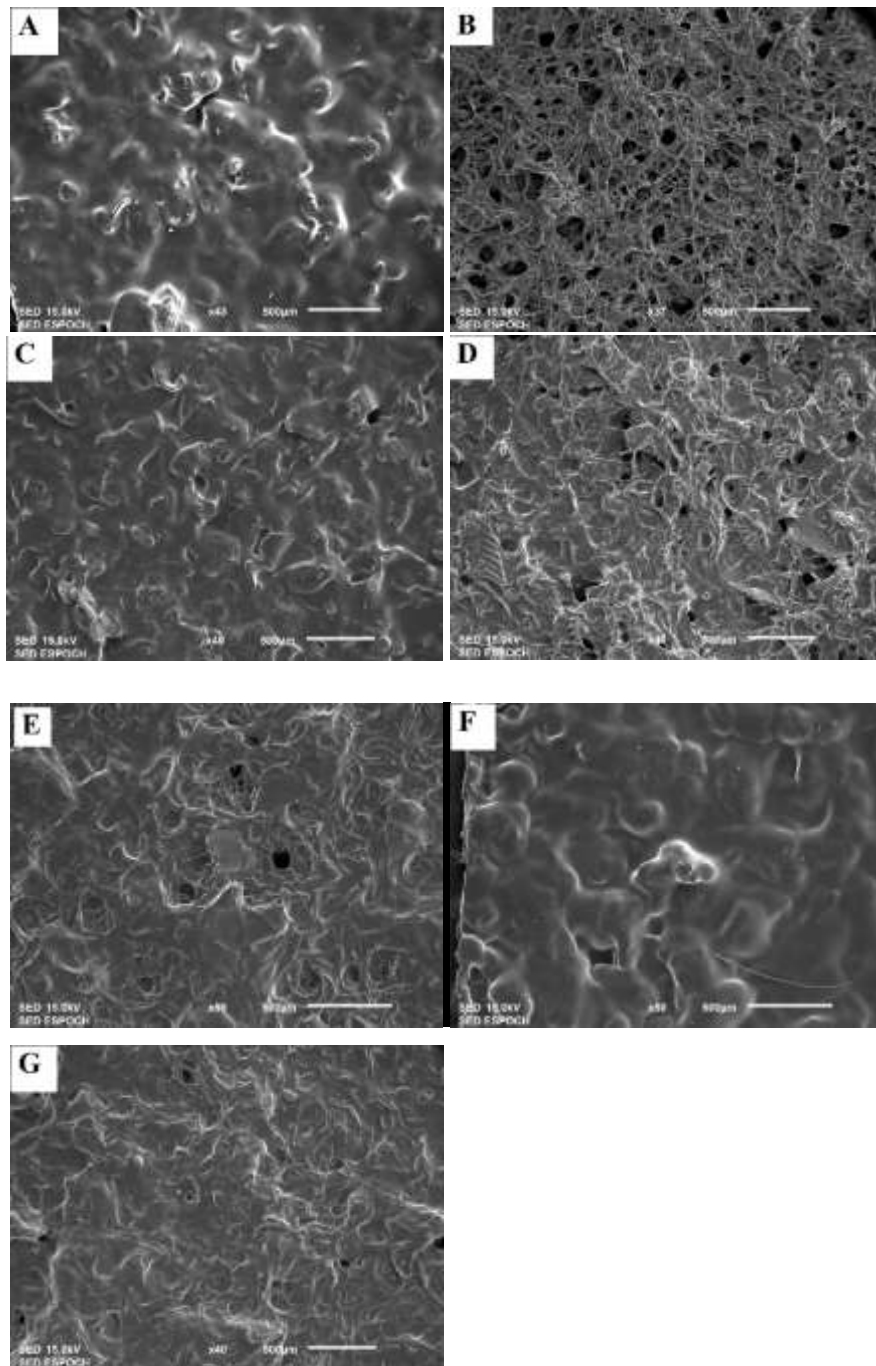


Ilustración 4-13: SEM de los biopolímeros: a) TBC-0, b) TBC-1, c) TBC-2, d) TBC-3, e) TBC-4, f) TBC-5, g) TBC-6 (500 µm)

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

En la Ilustración 4-13, se evidencia la superficie del tratamiento TBC-1 con mayor porosidad que la superficie de soporte del TBC-0 a causa de las aglomeraciones de fibras largas en las que se encuentra pequeños residuos de lignina, sin embargo, en el caso del tratamiento TBC-4 que contiene un mayor porcentaje de celulosa la superficie es más compacta con el colágeno. Por otra

parte, en el biopolímero TBC-2 se observa una superficie con relieves a causa de la presencia de los gránulos de colágeno, además, las láminas de grafeno recubren dicho relieve volviendo la morfología más densa y arrugada. Se puede observar que en el tratamiento TBC-5 que contiene más concentración de óxido de grafeno presenta la misma morfología arrugada.

Finalmente, en el tratamiento TBC-3 que contiene la unión de celulosa y óxido de grafeno se evidencia la mejora de la superficie reflejando una menor porosidad que el biopolímero TBC-1, de la misma manera ocurre en el tratamiento TBC-6 con una apariencia porosa aún menor.

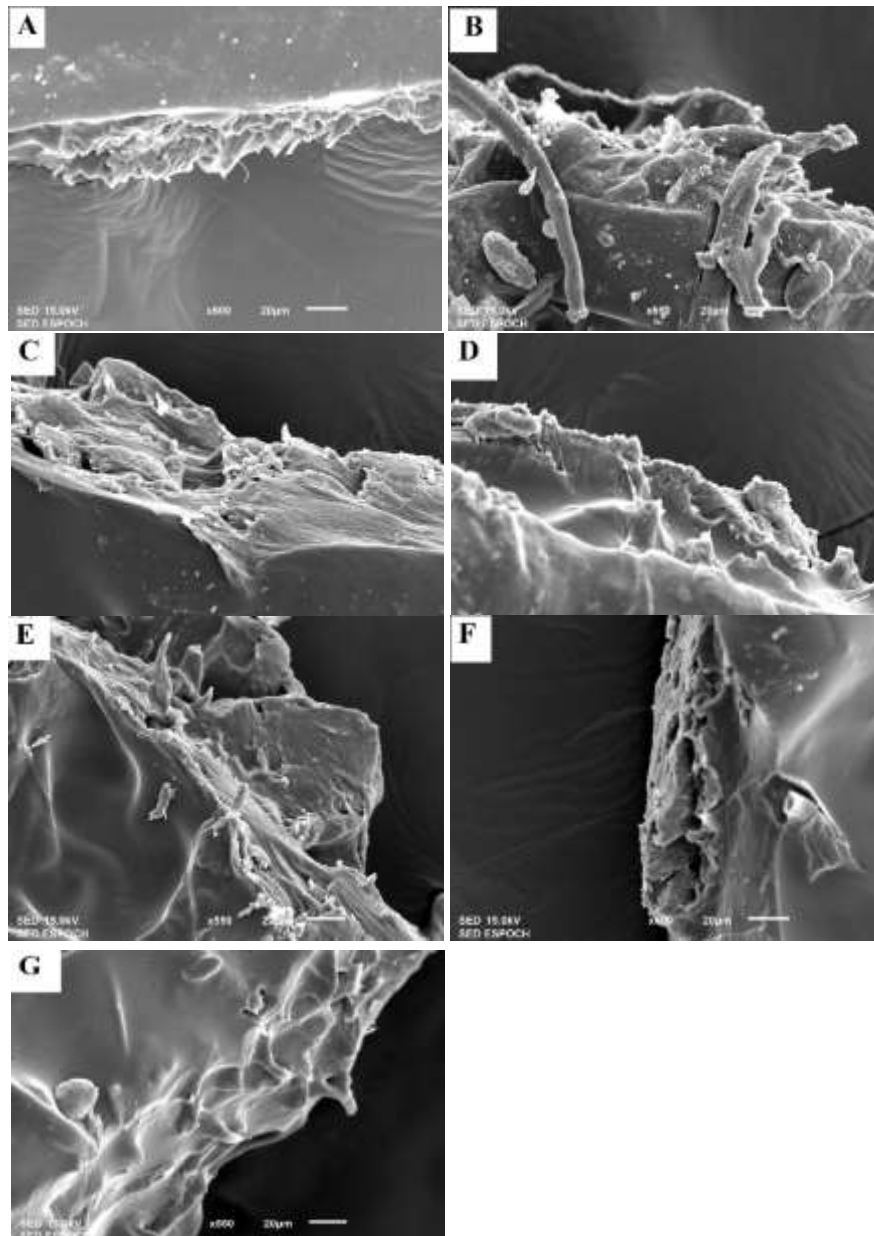


Ilustración 4-14: SEM vista transversal de los biopolímeros: a) TBC-0, b) TBC-1, c) TBC-2, d) TBC-3, e) TBC-4, f) TBC-5, g) TBC-6 (20 μm)

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

En la Ilustración 4-14, se aprecia una vista transversal de los biopolímeros de colágeno con celulosa y óxido de grafeno, donde se observa diferencias en la compactación de los biopolímeros. En cuanto al tratamiento TBC-0 considerado la matriz presenta una estructura más compacta tiene en sus láminas, mientras que a los tratamientos que contienen óxido de grafeno (TBC-2, TBC-3, TBC-5, TBC-6) se observa que está compuesto por pequeñas láminas sobrepuestas y en el caso de los tratamientos TBC-1 y TBC-4 se observa mayor irregularidad en su compactación.

4.3.4. Evaluación económica del biopolímero

El costo de producción de las láminas del biopolímero de colágeno de escamas de pescado con celulosa y óxido de grafeno de 110 x 90 mm, implica la consideración de los costos asociados a cada etapa de desarrollo. A continuación, se presentan un desglose detallado de los costos de cada proceso según la información proporcionada en los resultados de la búsqueda.

4.3.4.1. Obtención del colágeno

Tabla 4-45: Costos de los materiales utilizados para obtención de colágeno

N.º	Insumos empleados	Costo (\$)
1	Escamas	0
2	Rennina	4,050
3	Agua	0,880
4	NaOH	13.750
5	CH ₃ COOH	1.800

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Tabla 4-46: Costos de la extracción de colágeno

N.º	Proceso	Costo de producción (\$)
1	Obtención de colágeno	0,173

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

A fin de obtener 118,50 gramos de colágeno de escamas se necesitaron de \$20,480 dólares en insumos. Después de realizar un análisis, se considera que el costo de producción de 1 gramo de colágeno es de \$0,173 dólares.

4.3.4.2. Obtención del óxido de grafeno

Tabla 4-47: Costos de los materiales utilizados en la síntesis de óxido de grafeno

N.º	Materiales	Cantidad	Costo insumo
1	Grafito	3 g	15,000
2	KMnO4	9 g	3,271
3	HCl	5 ml	0,255
4	H2SO4	70 ml	1,056
5	H2O2	30 ml	0,479
6	Agua	650 ml	0,429
7	Aceite	1000 ml	1,000
8	Hielo	1 funda	0,74
9	Caracterización del GO	Análisis	100
Total			122,230

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Tabla 4-48: Gastos relacionados con la elaboración de óxido de grafeno

N.º	Proceso	Óxido de grafeno sólido (g)	Costo de producción (\$/g)	Costo de producción (\$/L)	Costo de producción (\$/ml)
1	Obtención de óxido de grafeno (ac)	2,057	47,970	48,630	0,049

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Con el fin de obtener 2,057 g de óxido de grafeno en forma sólida, se requiere una inversión de \$122,230 dólares, que cubre la adquisición de los materiales y reactivos necesarios. A partir de estos datos, se calculó el costo de producción de 1 gramo de óxido de grafeno en forma sólida y de 1 litro de solución, siendo de \$47,970 y \$48,630 dólares respectivamente. Estos valores permiten calcular el costo de producción de cada mililitro de óxido de grafeno.

4.3.4.3. Obtención de la celulosa

Tabla 4-49: Costos de los materiales utilizados en la obtención de celulosa

N.º	Insumos	Cantidad	Costo insumo
1	Papel reciclado	80 g	0
2	NaOH	45 g	20,625
3	NaClO	7 ml	0,255
4	Agua	5000 ml	0,625
Total			21,505

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Tabla 4-50: Costos de obtención de celulosa

N.º	Proceso	Costo de producción (\$)
1	Obtención de celulosa	0,281

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Para obtener 76, 430 gramos de celulosa, se requirió una inversión de \$21,505 dólares para la adquisición de materiales. A partir de esta relación, se determinó que el costo de producción de 1 gramo de celulosa es de \$0,281 dólares.

4.3.4.4. Elaboración del biopolímero

Tabla 4-51: Costos de producción del biopolímero

Producto	N.º	Tratamiento	Costo de producción(\$/lámina)
Láminas de biopolímero de colágeno de escamas de pescado	1	TBC-0	0,298
	2	TBC-1	0,315
	3	TBC-2	0,371
	4	TBC-3	0,388
	5	TBC-4	0,332
	6	TBC-5	0,420
	7	TBC-6	0,454

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

Basado en la valoración de los parámetros económicos, se ha observado que existe diferencias entre los tratamientos, tanto en el peso de la celulosa como el volumen de óxido de grafeno añadido, y la diferencia de costos radica en el precio de este. En consecuencia, producir un biopolímero que contenga celulosa será más económico que producir un biopolímero con la adición de óxido de grafeno, de la misma manera la unión de estos dos componentes aumenta su

valor. Sin embargo, es crucial considerar las características mecánicas de cada tratamiento que se desee producir para asegurar una relación de costo-beneficio apropiado.

4.4. Prueba de hipótesis

4.4.1. Prueba de hipótesis general

Es viable obtener biopolímeros con buenas características mecánicas en comparación con un biopolímero convencional. Esto se puede lograr al utilizar colágeno de escamas de pescado, como materia prima con la adición de celulosa y óxido de grafeno como factor para mejorar dichas propiedades. Además, al emplear el alcohol polivinílico como plastificante también apporto en el mejoramiento.

4.4.2. Prueba de hipótesis específica 1

El colágeno obtenido a través del método de hidrólisis enzimática presenta propiedades físicas y químicas aptas para formar la matriz del biopolímero y a la vez introducir agentes externos como la celulosa y el óxido de grafeno. Dichos parámetros se establecieron mediante pruebas de humedad, cenizas, Ph y un espectro IR. De igual manera, la obtención de celulosa y óxido de grafeno fueron comprobados con un espectro IR.

4.4.3. Prueba de hipótesis específica 2

Es factible identificar las diferencias entre cada tratamiento de los biopolímeros de colágeno con celulosa y óxido de grafeno, a través de un análisis y comparación de los resultados de la microscopía electrónica de barrido (SEM) que muestra su morfología y composición presentes en el Ilustración 4-13 y 4-14. En el caso del espectro IR no se muestra diferencias, dado que los tratamientos poseen grupos funcionales similares entre materia prima y aditivos que están expuestos en el Ilustración 4-12.

4.4.4. Prueba de hipótesis específica 3

Se puede calcular el grado de descomposición del biopolímero evaluando la disminución de su área original respecto al tiempo que el material permanece en contacto con los diferentes factores presentes en los entornos de agua, suelo y medio ambiente. Se observa que los mayores resultados de degradación se obtuvieron en agua, seguido de suelo y finalmente el medio ambiente. La tabla

4-28 y figura adjunta presentan los porcentajes de degradación obtenidos en los 3 medios al día 30 del experimento.

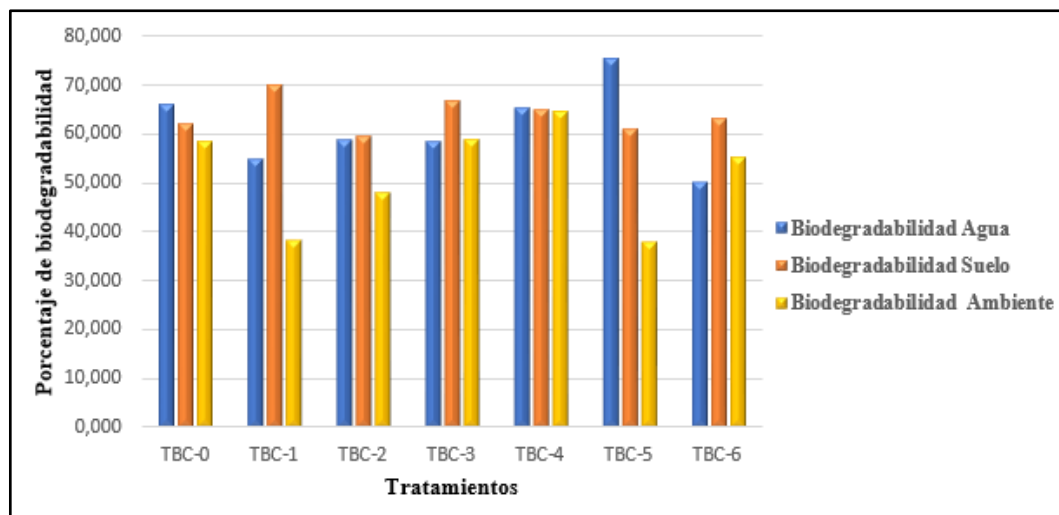


Ilustración 4-15: Porcentaje de degradabilidad alcanzado

Realizado por: Chonga, V.; Vega, M., 2024.

4.4.5. Prueba de hipótesis específica 4

Mediante el análisis y comparación de resultados ANOVA, es posible comprobar que existe diferencias significativas entre los tratamientos de los biopolímeros de colágeno de escamas de pescado con adición de celulosa y óxido de grafeno, en las 4 primeras características de las pruebas de tracción, dado que el p - valor no supera el 0,05 establecido en alfa. Los resultados de tracción de cada uno de los tratamientos son presentados en la tabla 4-29.

4.4.6. Prueba de hipótesis específica 5

El tipo de materia prima empleado y los procesos de producción aplicados tienen una influencia significativa en el costo de producción del biopolímero.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- La metodología empleada para la obtención del biopolímero a partir del colágeno de escamas de pescado con la adición de celulosa y óxido de grafeno, permitió alcanzar un bioplástico con buenas características mecánicas, pese a que los resultados se vieron afectados con la humedad del ambiente. Se ha demostrado la viabilidad de utilizar recursos renovables y nanomateriales para desarrollar materiales poliméricos con propiedades mejoradas y aplicaciones potenciales en diversos campos.
- Se logró sintetizar colágeno de escamas de pescado utilizando el método de hidrólisis enzimática. Este proceso ha demostrado ser adecuado para obtener colágeno de alta pureza y calidad, formando parte principal de la matriz del biopolímero. El uso de colágeno derivado de escamas de pescado representa una alternativa sostenible para la producción de biopolímeros, aprovechando recursos renovables y reduciendo la dependencia de fuentes no renovables.
- Se diseñaron y elaboraron seis formulaciones diferentes de biopolímeros utilizando una combinación de colágeno con celulosa y óxido de grafeno a diferentes concentraciones. Cada formulación se evaluó las propiedades mecánicas, como resistencia a la tracción, flexibilidad y rotura de carga. Estos ensayos permitieron identificar las combinaciones óptimas de materiales para mejorar las propiedades mecánicas del biopolímero, lo que es fundamental para su aplicabilidad.
- Se realizó una caracterización detallada de las seis formulaciones de biopolímeros utilizando técnicas avanzadas como FTIR y SEM. Estos análisis proporcionaron información sobre la estructura molecular y morfología de los biopolímeros, así como, sobre la distribución y la interacción de los componentes en la matriz que influye en sus características físicas y químicas como en su porcentaje de humedad, permeabilidad, solubilidad, entre otros. Esta caracterización es esencial para comprender el comportamiento y las propiedades de los biopolímeros y para orientar el diseño de formulaciones futuras.
- Se determinó que el tiempo de degradación de las láminas de plástico es dependiente de los diferentes entornos. Teniendo así los resultados más relevantes en el suelo con un tiempo de degradación total de 55 días en los tratamientos TBC-1 y TBC-3, en el caso de los tratamientos TBC-0, TBC-2 y TBC-5 se demoran un poco más, alrededor de 61 días. Por otra parte, los biopolímeros que se encuentran en el ambiente se degradan en un promedio de 75

días los tratamientos TBC-2 y TBC-4 y en 80 días el TBC-0, TBC-1 y TBC-6. En el caso del agua se desintegran en menor tiempo, sin embargo, se degradan por completo los tratamientos TBC-1, TBC-2, TBC-3 y TBC-6 en un promedio de 72 días y los tratamientos restantes en un promedio de 91 días. Los resultados obtenidos demuestran el potencial de los biopolímeros desarrollados como alternativas sostenibles y amigables con el medio ambiente a los plásticos convencionales.

- Se llevó a cabo un estudio ANOVA para analizar estadísticamente las diferencias entre las formulaciones de biopolímeros con relación a las propiedades mecánicas, la cual permitió seleccionar los tratamientos con mejores características que son el TBC-3 que tiene una carga máxima de 6,268 N, pero con un menor desplazamiento máximo de 34,631 mm y el tratamiento TBC-2 que tiene un mayor desplazamiento de 54,889 mm, pero una menor carga máxima de 2,398 N.
- Se calculó el costo de producción del plástico para cada tratamiento, teniendo en cuenta los materiales y procesos involucrados en su fabricación. El costo de producción de una lámina de bioplástico de 110 x 90 mm para: el TBC-0 es de \$0,298, el TBC-1 sería de \$0,315, el TBC-2 es de \$ 0,371, el TBC-3 es de \$0,388, el TBC-4 sería \$0,332, el TBC-5 de \$ 0,420 y por último el TBC-6 de \$ 0,454.

5.2. Recomendaciones

- En el método de extracción de colágeno, se genera una cierta cantidad de residuos de escamas de pescado en la etapa de molienda, razón por la cual se recomienda su reutilización en el ámbito agrícola como uso de fertilizante orgánico como promotor de crecimiento en las plantas ya que en su composición es rico en nutrientes. Otra alternativa para evitar que se generen residuos es empleando otro método de obtención de colágeno como la hidrólisis ácida.
- En el caso de la síntesis de óxido de grafeno, se recomienda realizar un baño de hielo al recipiente en el que se va a trabajar previo al proceso, para evitar que la temperatura exceda los 20°C al agregar el permanganato de potasio (KMnO₄). Por otra parte, cuando se realizan los lavados se debe evitar que se desperdicie la solución que contiene el óxido de grafeno.
- Promover el desarrollo de los biopolímeros mediante la divulgación pública y científica sobre la importancia del mismo y su rol en la búsqueda de soluciones amigables con el medio ambiente mediante su aplicabilidad en amplios ámbitos como envases de alimentos, dispositivos biomédicos, sensores o dispositivos electrónico flexibles, materiales de construcción, entre otros. De esta manera, se busca minimizar el impacto negativo hacia el medio ambiente y practicas más sostenibles en la industria y la sociedad en general.

- Para futuras investigaciones, se recomienda implementar el uso de otros tipos de nanomateriales, como nanopartículas de sílice, nanotubos de carbono o nano fibras de celulosa que puedan mejorar aún más las características de los biopolímeros.

BIBLIOGRAFÍA

1. **A LEVEL BIOLOGY.** Cellulose. *A Level Biology Revision* [en línea]. S.f. [Consulta: 12 enero 2024]. Disponible en: <https://alevelbiology.co.uk/notes/cellulose/>
2. **ACOSTA, M. & CANDELA, S.** Obtención de bioplástico utilizando colágeno de los residuos de pescado del terminal pesquero Villa María del Triunfo-2020 [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Lima, Perú. 2020. págs. 1-103. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/77128/Acosta_BML-Candela_OSM-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y
3. **AIBAR, M.A.** Extracción de colágeno a partir de escamas de peces de río por hidrólisis mixta [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. 2023. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/9120/Mayra_Tesis_Titulo_2023.PDF?sequence=1&isAllowed=y
4. **AILA-SUÁREZ, S.; et al.** “Characterization of films made with chayote tuber and potato starches blending with cellulose nanoparticles”. *Carbohydrate Polymers* [en línea], 2013, vol. 98 (1), págs. 102-107. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/256288590_Characterization_of_films_made_with_chayote_tuber_and_potato_starches_blending_with_cellulose_nanoparticles
5. **ALZATE, S.; et al.** “Bioplásticos de colágeno parcialmente hidrolizado obtenido de las escamas del bocachico (*Prochilodum magdalenae*), reforzados con cascarilla de arroz”. *Biopolímeros* [en línea], 2018, vol.1 (1). págs. 103-106. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: https://revistas.sena.edu.co/index.php/inf_tec/article/view/1983/2211
6. **BRADFORD, A.** ¿Qué es un polímero? *Livescience* [en línea]. 2013. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: <https://www.livescience.com/60682-polymers.html>
7. **BRITO, H.; et al.** “Obtención De Compost A Partir De Residuos Sólidos Orgánicos Generados En El Mercado Mayorista Del Cantón Riobamba”. *European Scientific Journal* [en línea], 2016, vol. 12 (29), págs. 76-94. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://eujournal.org/index.php/esj/article/view/8200/7914>

8. **BURGOS MUÑOZ, A.; et al.** “Escama de pescado como fertilizante orgánico en el crecimiento de cilantro (*Coriandrum sativum*)”. *Ingeniantes* [en línea], 2022, vol. 3 (2), págs. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: <https://citt.itsm.edu.mx/ingeniantes/articulos/ingeniantes9no2vol3/2.-%20Escama%20de%20pescado%20como%20fertilizante%20org%C3%A1nico.pdf>
9. **CABRERA, J.** Depósito gestor integral de residuos sólidos urbanos dirigidos hacia la capacitación y desarrollo comunitario [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. 2012. págs. 1-55. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: <https://repositorio.puce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/2b69f79a-5f77-4aad-814c-cf08d021adec/content>
10. **CAMIMEX**, *Perfil de mercado del grafito* [en línea]. México: Educación geológica. 2018. [Consulta: 19 enero 2024]. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/419272/Perfil_Grafito_2018__T_.pdf
11. **CAPITANI, M.I.; et al.** “Characterization of Biodegradable Films Based on *Salvia hispanica* L. Protein and Mucilage”. *Food and Bioprocess Technology* [en línea], 2016, vol. 9 (8), págs. 1276-1286. [Consulta: 18 enero 2024]. ISSN 19355149. Disponible en: https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1081/1/2016_id38665_Capitani.pdf
12. **CARBALLO, E.A. & MARTÍNEZ, E.S.** Determinación de la permeabilidad al vapor de agua por el método ASTM E96/E 96M-05 en películas de quitosano [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad del Salvador, San Salvador, El Salvador. 2010. págs. 1-218. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2497/1/Determinación_de_la_permeabilidad_al_vapor_de_agua_por_el_método_ASTM_E96M-05_en_películas_de_quitosano.pdf
13. **CHIFLA, K.** Obtención de bioplástico a partir de salvado de trigo (*Triticum spp*) y soja (*Glycine max*) para uso como envoltura de alimentos [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador. 2022. págs. 1-105. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/17347/1/56T01068.pdf>
14. **COBEÑA, M.; et al.** “Revisión de los métodos de obtención de colágeno a partir de subproductos de especies marinas”. *Rev. Centro Azúcar* [en línea], 2022, vol. 49 (4), págs.

- 102-112. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/caz/v49n4/2223-4861-caz-49-04-102.pdf>
15. **CONTERAS, P.; et al.** “Obtención y caracterización de colágeno del pez de agua dulce *Prochilodus magdalenae*: aplicación en películas biodegradables”. *Información Tecnológica* [en línea], 2023, vol. 32 (2), págs. 89-98. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/infotec/v34n2/0718-0764-infotec-34-02-89.pdf>
16. **CONTRERAS, R.** *Que es colágeno* [blog]. [Consulta: 14 enero 2024]. Disponible en: <https://biologia.laguia2000.com/bioquimica/que-es-el-colageno>
17. **ELSEVIER CONNECT.** Colágenos: tipos, composición, características y distribución en tejidos. *Elsevier* [en línea]. 2019. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/colagenos-tipos-composicion-distribucion-tejidos>
18. **ESCOBAR, D.; et al.** “Películas biodegradables y comestibles desarrolladas en base a aislado de proteínas de suero lácteo : estudio de dos métodos de elaboración y del uso de sorbato de potasio como conservador”. *Revista Del Laboratorio Tecnológico Del Uruguay* [en línea], 2009, vol. 4 (4), págs. 33-36. [Consulta: 14 enero 2024]. Disponible en: <https://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTEC/article/view/51/42>
19. **ESPINOZA, D. & CASTILLO, A.:** “Technological advances in obtaining, identifying and producing protein hydrolysates from fish residues by enzymatic action: bioactive and technofunctional properties, application in food, market and regulation”. *Scientia Agropecuaria* [en línea], 2022, vol.13 (2), págs. 135-248. [Consulta: 12 enero 2024]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v13n2/2077-9917-agro-13-02-135.pdf>
20. **ESPINOZA, S. & LLANEZ, J.** Interacción entre la respuesta social y la aplicación técnica de un sistema de manejo de desechos sólidos [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería, Riobamba, Ecuador. 2018. págs. 1-75. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/4829/1/UNACH-EC-ING-CIVIL-2018-0013.pdf>

21. **FARIAS, L.; et al.** Grafeno, el material del futuro. *Ciencia Cierta* [en línea]. 2017. [Consulta: 14 enero 2024]. Disponible en: <http://www.cienciacierta.uadec.mx/articulos/cc50/grafeno.pdf>
22. **FLORES, C.** Extracción de colágeno de las escamas de pescado utilizando diferentes niveles de rennina [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Riobamba, Ecuador. 2017. págs. 1-94. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/7774/1/27T0374.pdf>
23. **FLORES, C.B.** “La problemática de los desechos sólidos”. *Economía* [en línea], 2009, vol.34 (1), págs. 121-144. [Consulta: 15 enero 2024]. Disponible en: http://iies.faces.ula.ve/revista/articulos/revista_27/pdf/rev27bustos.pdf
24. **G, K.** *Biodegradation. In Environmental Exposure From Chemicals.* S.l.: s.n. 2013. págs. 353-388. ISBN 9780128128473.
25. **GAÑÁN, P.; et al.** “Celulosa: Un Polímero con Mucho Futuro”. *Revista Colombiana de Materiales* [en línea], 2017, vol. 1 (1), págs. 1-4. [Consulta: 15 enero 2024]. ISSN 2256-1013. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/319361290_Celulosa_un_polimero_de_siempre_con_mucho_futuro/link/59da4e5aa6fdcc2aad12a18a/download
26. **GELSE, K.; et al.** “Collagens - Structure, function, and biosynthesis”. *Advanced Drug Delivery Reviews* [en línea], 2003. vol. 55 (12), págs. 1531-1546. [Consulta: 15 enero 2024]. ISSN 0169409X. Disponible en: <https://www.et-fine.com/10.1016/j.addr.2003.08.002>
27. **GONZÁLEZ, J.** Obtención de grafeno a partir de grafito mineral y su caracterización mediante espectroscopia Raman [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad de Sonora, Hermosillo, México. 2013. págs. 1-54. [Consulta: 15 enero 2024]. Disponible en: <http://repositorioinstitucional.uson.mx/handle/20.500.12984/7939>
28. **GUAMÁN BRAVO, J.M.** Obtención de plásticos biodegradables a partir de almidón de cáscaras de papa para su aplicación industrial [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador. 2019. págs. 1-88. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/11069/1/96T00540.pdf>

29. **GUARNIZO, A.; et al.** “Pretratamientos de la celulosa y biomasa para la sacarificación”. *Scientia et Technica* [en línea], 2009, vol. 15 (42), págs. 284-289. [Consulta: 18 enero 2024]. ISSN 0122-1701. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84916714053>
30. **HERRERA, M.; et al.** Obtención de Nanocelulosa a partir de Celulosa de Puntas de Abacá [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Quito, Ecuador. 2019. págs. 1-107. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/19544/1/CD-8942.pdf>
31. **INEC.** *Estadística de Información Ambiental Económica en Gobiernos Autónomos Descentralizados Municipales* [en línea]. Ecuador: INEC. 2022. [Consulta: 19 enero 2024]. Disponible en: [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Municipios_2021/Residuo_solidos_2021/Presentación%20residuos%202021%20v07JA_CGTP%20\(Rcv%20%20CGTPE\)%20\(Rcv.%20Dicos\).pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Municipios_2021/Residuo_solidos_2021/Presentación%20residuos%202021%20v07JA_CGTP%20(Rcv%20%20CGTPE)%20(Rcv.%20Dicos).pdf)
32. **ISSAADI, K.; et al.** “Maleic anhydride-grafted poly(lactic acid) as a compatibilizer in poly(lactic acid)/graphene oxide nanocomposites”. *Polymer Bulletin* [en línea], 2016, vol. 73 (7), págs. 2057-2071. [Consulta: 19 enero 2024]. ISSN 01700839. Disponible en: <https://scihub.3800808.com/10.1007/s00289-015-1593-z>
33. **JOAQUI, D. & VILLADA, H.** “Propiedades ópticas y permeabilidad de vapor de agua en películas producidas a partir de almidón”. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* [en línea], 2013, vol. 11 (spe), págs. 59-68. [Consulta: 19 enero 2024]. ISSN 1692-3561. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11nspe/v11nespa07.pdf>
34. **JORDI, L.; et al.** “Proteólisis enzimática del colágeno dentinario”. *Odontoestomatología*, 2010, vol. 12 (14), págs. 35-44. [Consulta: 19 enero 2024]. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/ode/v12n14/v12n14a04.pdf>
35. **KIMURA, S.; et al.** “Scale and bone type I collagens of carp (*Cyprinus carpio*)”. *Comp. Biochem. Physiol* [en línea], 1991, vol. 99 (2), págs. 473-476. [Consulta: 12 enero 2024]. Disponible en: [https://www.et-fine.com/10.1016/0305-0491\(91\)90073-m](https://www.et-fine.com/10.1016/0305-0491(91)90073-m)
36. **LUQUE, M.** *Estructura y propiedades de las proteínas* [en línea]. S.l.: Bioquímica médica. 2011. [Consulta: 19 enero 2024]. Disponible en: https://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf

37. **MATA, M.; et al.** “Elaboración de biopelícula a partir de las escamas, espinas y piel de Mojarra Tilapia (*Oreochromis niloticus*)”. *Revista de Ingeniería Tecnológica* [en línea], 2017, vol. 1 (4). [Consulta: 19 enero 2024]. Disponible en: www.ecorfan.org/taiwan.
https://www.ecorfan.org/taiwan/research_journals/Ingenieria_Tecnologica/vol1num4/Revista_de_Ingenieria_Tecnologica_V1_N4_3.pdf
38. **MATHEWS, C.; et al.** *Bioquímica* [en línea]. 3ra edición. S.l.: Paerson. 2002. [Consulta: 13 enero 2024]. Disponible en:
<https://www.yumpu.com/es/document/read/62014014/bioquimica3-mathews>.
<https://www.yumpu.com/es/document/read/62014014/bioquimica3-mathews>
39. **MANDUJANO, N.** Biopolímeros microbianos: aplicaciones en biomedicina y farmacia [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador. 2020. págs. 1-20. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en:
<https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/103204/MANDUJANO%20TAZZA%20NELA%20PATRICA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
40. **MENEZES, F.; et al.** “From Magneto-Dielectric Biocomposite Films to Microstrip Antenna Devices”. *J. Compos. Sci* [en línea], 2022, vol. 4 (4), págs. 2-20. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2504-477X/4/4/144>
41. **MOROCHO, M. et al.** “Caracterización físico química y mecánica de bioplásticos obtenidos a partir del trigo y cebada”. *Scielo* [en línea], 2019, vol. 135, (September), págs. 1743-1747. [Consulta: 16 enero 2024]. ISSN 2392-2192. Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8383970.pdf>
42. **MUYONGA, J.H.; et al.** “Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*)”. *Food Chemistry* [en línea], 2004. vol. 85 (1), págs. 81-89. [Consulta: 13 enero 2024]. ISSN 03088146. Disponible en: <https://www.et-fine.com/10.1016/j.foodchem.2003.06.006>
43. **NTE INEN 643:2012.** *Especificación para plásticos compostables.*
44. **NÚÑEZ, A.C.** Obtención de una película de bioplástico a partir del colágeno de las patas de pollo [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Central de Ecuador, Quito,

- Ecuador. 2014. págs. 1-113. [Consulta: 13 enero 2024]. Disponible en: <https://www.dspace.uce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/aa134d34-5977-4e43-a75f-9dbaf4cb2f87/content>
45. **OSORIO, J.** Preparación de materiales grafénicos para su uso como electrodos en sistemas electroquímicos de almacenamiento de energía [en línea]. (Trabajo de titulación) (Master). Universidad de Oviedo, Asturias, España. 2016. págs. 1-53. [Consulta: 13 enero 2024]. Disponible en: https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/39066/TFM_JM%20Osorio%20Mancilla.pdf;jsessionid=58B0DABEC52EB70E8D885FDD0359619D?sequence=6
46. **PANG, J.; et al.** “Fabrication of cellulose film with enhanced mechanical properties in ionic liquid 1-allyl-3-methylimidazolium chloride (AmimCl)”. *Materials* [en línea], 2013, vol. 6 (4), págs. 1270-1284. [Consulta: 16 enero 2024]. ISSN 19961944. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1996-1944/6/4/1270>
47. **PATI, F.; et al.** “Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability”. *Bioresource Tecnology* [en línea], 2010, vol. 101 (1), págs. 3737-3742. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://scihub.ru/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852410000507>
48. **PAZ-LUGO, P.** *Colágeno en cultivos celulares Posible tratamiento de enfermedades* [en línea]. España: Universidad de Granada. 2016. [Consulta: 16 enero 2024]. ISBN 9788433840424. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=47720>
49. **PROCKOP, D. & GUZMÁN, N.** *El colágeno* [en línea]. Ecuador: Editorial Amaneceres. 2019. [Consulta: 19 enero 2024]. Disponible en: <http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/fundamentos/articulos/Art%C3%ADculos/CL002.pdf>
50. **PENNACCHIOTTI, I.** *Las proteínas: generalidades y su importancia en nutrición y en la industria de alimentos* [en línea]. Santiago de Chile-Chile: Impresos Universitaria, S.A. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/121429/Lasproteinas.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
51. **POTAROS, T.; et al.** “Characteristics of collagen from nile tilapia (*oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods”. *Kasetsart Journal - Natural Science* [en línea], 2009,

- vol. 43 (3), págs. 584-593. [Consulta: 16 enero 2024]. ISSN 00755192.
<https://www.thaiscience.info/journals/Article/TKJN/10974304.pdf>
52. **POZNIAK, T.** *Ozonatioin and Biodegradation in Enviromental en gineering* [en línea]. Chapter 11. S.l.: Elsevier Inc. 2019. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://scihub.yncjkj.com/10.1016/B978-0-12-812847-3.00023-8>
53. **QUINTERO, J. & ZAPATA, J.E.** “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* [en línea], 2017, vol. 28 (1), págs. 109-120. [Consulta: 16 enero 2024]. ISSN 07180764. DOI 10.4067/S0718-07642017000100011. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/infotec/v28n1/art11.pdf>
54. **RODRÍGUEZ, D.; et al.** *Biopolímeros: de principio a fin* [en línea]. México: ECORFAN. 2020. [Consulta: 16 enero 2024]. Disponible en: https://www.ecorfan.org/handbooks/Handbooks_Mujeres_en_la_Ciencia_TIX/Handbooks_Mujeres_en_la_Ciencia_TIX_9.pdf
55. **ROSAS, O. & SILVA, E.** Electrodo transparentes conductores basados en óxido de grafeno reducido para depósito electroquímico de óxidos semiconductores de interés fotovoltaico [en línea]. (Trabajo de titulación) (Destripa). Centro de Investigación en Materiales Avanzados, Altamira, México. 2016. págs. 1-114. [Consulta: 16 enero 2024]. Disponible en: <https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/759/1/Ofelia%20Magdalena%20Rosas%20Hern%C3%A1ndez%20Ernesto%20Silva%20Galaviz%20Maestr%C3%ADa%20en%20Nanotecnolog%C3%ADa.pdf>
56. **ROSTINI, I.; et al.** “Characterization of Bioplastic Packaging from Tapioca Flour Modified with the Addition of Chitosan and Fish Bone Gelatin”. *World Scientific News* [en línea], 2019, vol. 135, (September), págs. 1743-1747. [Consulta: 16 enero 2024]. ISSN 2392-2192. Disponible en: https://www.academia.edu/65285963/Utilization_of_Tilapia_Bone_Gelatin_as_Biodegradable_Packaging_Material
57. **RUIZ, M.; et al.** “Biodegradabilidad de Artículos Desechables en un Sistema de Composta con Lombriz”. *Información Tecnológica*, 2013, vol. 24 (2), págs. 47-56. [Consulta: 16 enero 2024]. ISSN 07168756. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/infotec/v24n2/art07.pdf>

58. **SANAGUANO PERALTA, S.** Obtención de nanocelulosa a partir de la hoja de mazorca de maíz (*Zea mays* L.) mediante el proceso de hidrólisis ácida [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador. 2021. págs. 1-111. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/14991/1/96T00641.pdf>
59. **SÁNCHEZ, J.; et al.** “Evaluation of mechanical properties of matrices derived from fish scale collagen”. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales* [en línea], 2022, vol. 9 (2), págs. 119-129. [Consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: <https://revistas.sena.edu.co/index.php/recia/article/view/evaluation-of-mechanical-properties-of-matrices-derived-from-fis/evaluation-of-mechanical-properties-of-matrices-derived-from-fis>
60. **SERRANO, C.** “Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*)”. *REC: CardioClinics* [en línea], 2011, vol. 9 (79). [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/8297/jenifercarolinaserranogaona.2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
61. **SKOOG, D.; et al.** *Fundamentos de Química Analítica* [en línea]. Novena. S.l.: CENGAGE. 2014. [Consulta: 4 enero 2024]. ISBN 9780495558286 Disponible en: https://www.surcosistemas.com.ar/virtual/ebooks/QUIMICA_ANALITICA_Novena_edicion.pdf
62. **SOLÍS, R.** Óxido de grafeno químicamente modificado para bioaplicaciones [en línea]. (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad de La Coruña, La Coruña, España. 2022. págs. 1-48. [Consulta: 16 enero 2024]. Disponible en: https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/32294/SolisPerez_Rafhali_TFM_2022.pdf?sequence=2
63. **SUBACH, D.J.** “Biodegradable polymers”. *Chemist* [en línea], 1997, vol. 74 (1), págs. 7-9. [Consulta: 16 enero 2024]. Disponible en: <https://sci-hub.se/10.1533/9780857097149.31>
64. **TREJO, V.; et al.** “Estimación de la permeabilidad al vapor de agua en películas a base de quitosán”. *Revista de la Sociedad Química de México* [en línea], 2001, vol. 45 (1), págs. 1-5. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/rsqm/v45n1/v45n1a1.pdf>

65. **TRUJILLO, C.** Obtención de películas biodegradables a partir de almidón de yuca (*Manihot Esculenta Crantz*) doblemente modificado para su uso en empaque de alimentos. [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Nacional Amazónica De Madre Dios, Puerto Maldonado, Perú. 2014. págs. 1-147. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unamad.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14070/65/004-2-1-013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
66. **VALDERRAMA, S.; et al.** “Colágeno obtenido de escamas de cachema (*Cynoscion analis*), bonito (*Sarda chiliensis*) y corvina (*Cilus gilberti*): Comparación del contenido proteico”. *Manglar* [en línea]. vol. 19 (3), págs. 247-251. [Consulta: 12 enero 2024]. Disponible en: <https://erp.untumbes.edu.pe/revistas/index.php/manglar/article/view/262/375>
67. **VALERO-VALDIVIESO, M.; et al.** “Biopolímeros: Avances y perspectivas”. *DYNA* [en línea], 2013, vol. 80 (181), págs. 171-180. [Consulta: 4 enero 2024]. ISSN 00127353. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/496/49628728019.pdf>
68. **VASCONEZ, A.** Incidencia del óxido de grafeno en las propiedades mecánicas de las láminas de plástico biodegradable de quinua (*Chenopodium quinoa*) [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador. 2022. págs. 1-135. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17755/3/96T00798.PDF>
69. **VILLA, S.** Incidencia del óxido de grafeno en las propiedades mecánicas de las láminas de plástico biodegradable de oca (*Oxalis tuberosa*) [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador. 2022. págs. 1-97. [Consulta: 4 enero 2024]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/17754>
70. **WANG, L.; et al.** “Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols”. *Food Hydrocolloids* [en línea], 2013, vol. 32 (1), págs. 35-41. [Consulta: 14 enero 2024]. ISSN 0268005X. Disponible en: <https://scihub.3800808.com/10.1016/j.foodhyd.2012.11.034>
71. **YAGOS, C.J.** Síntesis De Un Polímero Compostable a Partir De Almidón, Como Una Alternativa Para Preparar Plásticos De Primer Uso [en línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. 2022. págs. 1-84. [Consulta:

14 enero 2024]. Disponible en:
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34277/1/t1935mquim.pdf>

72. **YAPU, E.; et al.** “Oxido de grafito expandido”. *Revista Boliviana de Química* [en línea], 2013, vol. 30 (2), págs. 156-161. [Consulta: 14 enero 2024]. Disponible en: <https://148.215.2.1/articulo.oa?id=426339680009#>
73. **ZALECHWSKA, E.; et al.** “Isolation and some properties of collagen from the backbone of Baltic cod (*Gadus morhua*)”. *Food Hydrocolloids* [en línea], 2010, vol. 24(4), págs. 325–329. [Consulta: 12 enero 2024]. Disponible en: <https://www.et-fine.com/10.1016/j.foodhyd.2009.10.010>



ANEXOS

ANEXO A: PROCESAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA PARA LA OBTENCION DE COLÁGENO



a)



b)



c)



d)

NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA <input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA ELABORADO POR: CHONGA AGUALSACA VIVIANA VEGA RAMIREZ MARITZA			Obtención de la harina de pescado		
a. Recolección de la materia prima. b. Limpieza de las escamas de pescado. c. Escurrimiento para eliminar el exceso de agua. d. Secado a temperatura ambiente.			LÁMINA	ESCALA	FECHA			
			1	1:1	2024/02/8			

ANEXO B: PROCESAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA PARA LA OBTENCION DE COLÁGENO



e)



f)



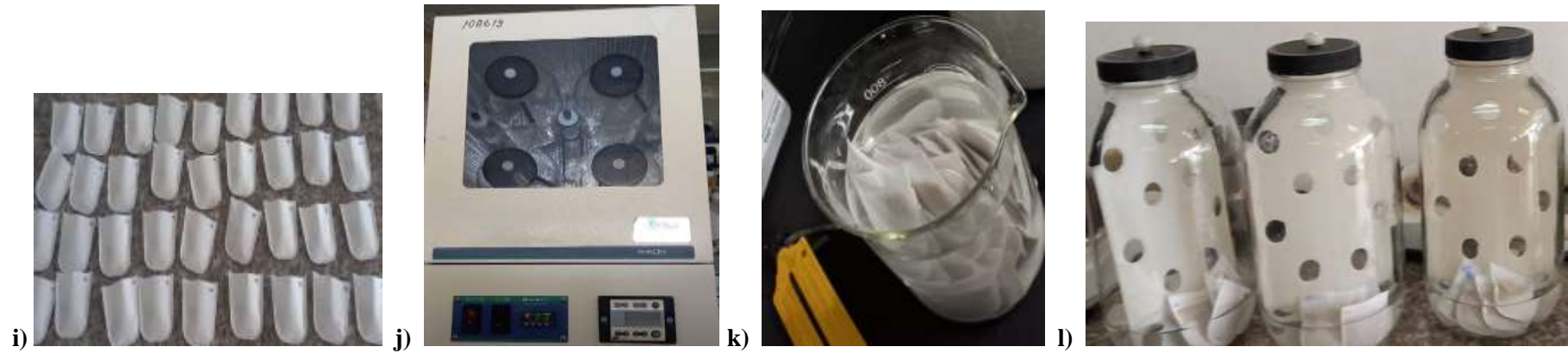
g)



h)

NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA			Obtención de harina de pescado		
e. Pesaje de las escamas de pescado f. Secado en estufa a 60° C por 48 h. g. Trituración de las escamas en molino industrial. h. Harina de pescado			ELABORADO POR: CHONGA AGUALSACA VIVIANA VEGA RAMIREZ MARITZA			LÁMINA	ESCALA	FECHA
		<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar				2	1:1	2024/02/8

ANEXO C: EXTRACCIÓN DE COLÁGENO DE LA HARINA DE PESCADO



NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA <input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA ELABORADO POR: CHONGA AGUALSACA VIVIANA VEGA RAMIREZ MARITZA			Obtención de colágeno		
i. Pesaje y colocación en bolsas de filtro. j. Lavado (Equipo Daysi II) k. Enjuagado l. Reacción enzimática			LÁMINA	ESCALA	FECHA			
			3	1:1	2024/02/8			

ANEXO D: EXTRACCIÓN DE COLÁGENO DE LA HARINA DE PESCADO



m)



n)



o)

NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA			Obtención de colágeno		
m. Hidrolizado y almacenado n. Liofilizado o. Colágeno obtenido			<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar			LÁMINA	ESCALA	FECHA
						4	1:1	2024/02/8

ANEXO E: PROCESAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA PARA LA EXTRACCIÓN DE LA CELULOSA



p)



q)



r)



s)

NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO		
p. Selección de la materia prima q. Pretratamiento r. Secado s. Tratamiento alcalino			<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar		
			FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA ELABORADO POR: CHONGA AGUALSACA VIVIANA VEGA RAMIREZ MARITZA		
		Extracción de la celulosa			
		LÁMINA	ESCALA	FECHA	
		5	1:1	2024/02/8	

ANEXO F: PROCESAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA PARA LA EXTRACCIÓN DE LA CELULOSA



t.



u.

NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA <input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA			Extracción de la celulosa		
t. Lavado, filtrado y secado			ELABORADO POR: CHONGA AGUALSACA VIVIANA VEGA RAMIREZ MARITZA			LÁMINA	ESCALA	FECHA
u. Celulosa			6	1:1	2024/02/8			

ANEXO G: SÍNTESIS DEL ÓXIDO DE GRAFENO



v)



w)



x)

NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA <input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA ELABORADO POR: CHONGA AGUALSACA VIVIANA VEGA RAMIREZ MARITZA			Síntesis del óxido de grafeno		
v. Síntesis del óxido de grafito. w. Lavados del óxido de grafito para la obtención del óxido de grafeno. x. Láminas del óxido de grafeno obtenido.			LÁMINA	ESCALA	FECHA	7	1:1	2024/02/8

ANEXO H: ELABORACIÓN DEL BIOPOLÍMERO



y)



z)



aa)

NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA <input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA ELABORADO POR: CHONGA AGUALSACA VIVIANA VEGA RAMIREZ MARITZA			Formulación del biopolímero		
y. Preparación de los biopolímeros z. Formulaciones de los biopolímeros realizados aa. Biopolímeros obtenidos			LÁMINA	ESCALA	FECHA			
				8	1:1	2024/02/8		

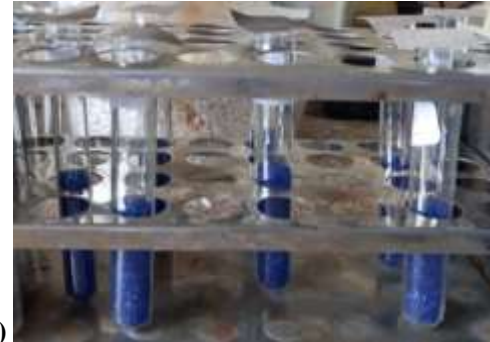
ANEXO I: ENSAYOS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL BIOPOLÍMERO



bb)



cc)



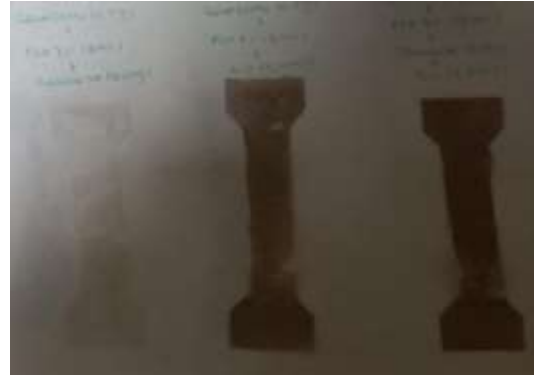
dd)

NOTAS:		ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA ELABORADO POR: CHONGA AGUALSACA VIVIANA VEGA RAMIREZ MARITZA	Ensayos físicos y químicos del biopolímero.		
bb. Ensayo de humedad del biopolímero cc. Ensayo de solubilidad del biopolímero dd. Ensayo de permeabilidad de vapor del biopolímero.			CATEGORÍA DEL DIAGRAMA		
			<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar		
		LÁMINA	ESCALA	FECHA	
		9	1:1	2024/02/8	

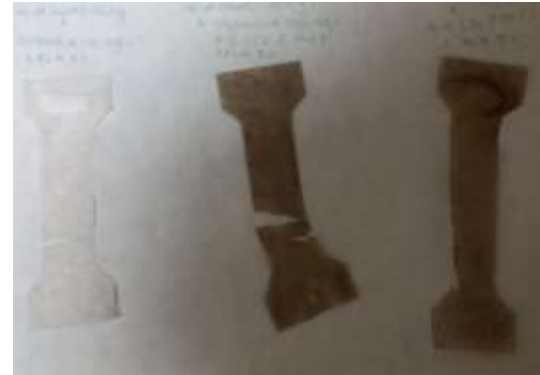
ANEXO J: ENSAYOS DE TRACCIÓN



ee)



ff)



gg)

NOTAS:

- ee. Ensayos de tracción en el equipo del laboratorio de investigación de la ESPOCH.
- ff. Muestras de los resultados de los ensayos de tracción, tratamientos: TBC-1, TBC-2, TBC3.
- gg. Muestras de los resultados de los ensayos de tracción, tratamientos: TBC-4, TBC-5, TBC-6.

CATEGORÍA DEL DIAGRAMA

- Aprobado
- Preliminar
- Certificado
- Por aprobar
- Información
- Por calificar

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA QUÍMICA**

ELABORADO POR:
CHONGA AGUALSACA VIVIANA
VEGA RAMIREZ MARITZA

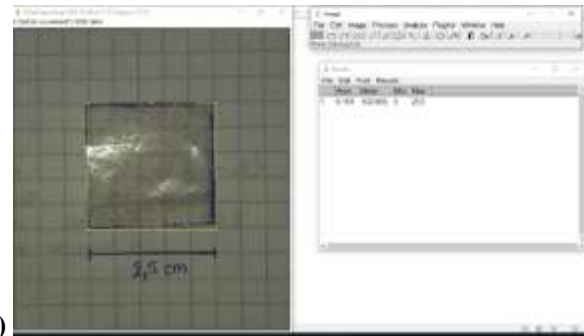
Ensayos de tracción del biopolímero

LÁMINA	ESCALA	FECHA
10	1:1	2024/02/8

ANEXO K: PRUEBAS DE BIODEGRADABILIDAD



hh)



ii)



NOTAS:		CATEGORÍA DEL DIAGRAMA	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA QUÍMICA		
hh. Muestras de biodegradabilidad en agua, aire y medio ambiente. ii. Determinación de las áreas mediante el software Image J.	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar		Pruebas de biodegradabilidad		
			LÁMINA	ESCALA	FECHA
		11	1:1	2024/02/8	

ELABORADO POR:
 CHONGA AGUALSACA VIVIANA
 VEGA RAMIREZ MARITZA



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 26/07/2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Viviana Carolina Chonga Agualsaca Maritza Soledad Vega Ramirez
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Química
Título a optar: Química
 Ing. Gabriela Viviana Tubon Usca, PhD. Director del Trabajo de Integración Curricular
 Ing. Linda Mariuxi Flores Fiallos MSc. Asesor del Trabajo de Integración Curricular