



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

“EXTRACCIÓN DE COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO
UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA”

TRABAJO DE TITULACIÓN
TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL

Previa a la obtención del Título de:
INGENIERA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTORA:
CARLA MERCEDES FLORES PINO

Riobamba – Ecuador
2017

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Carla Mercedes Flores Pino, declaro que el presente Trabajo de Titulación **“EXTRACCIÓN DE COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA”** es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como Autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación.

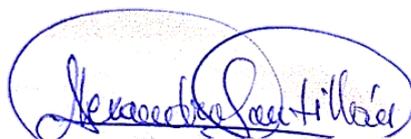
Riobamba, 03 de Agosto del 2017.



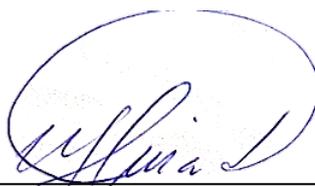
Carla Mercedes Flores Pino

C.I.: 060395435-5

El presente Trabajo de Titulación fue aprobado por el siguiente Tribunal



Ing. M. Cs. Cecilia Alexandra Santillán Obando
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Ing. M. Cs. Manuel Enrique Almeida Guzmán
DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN



BQF. M. Cs. Sandra Elizabeth López Sampedro
ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Riobamba, 03 de Agosto del 2017.

AGRADECIMIENTO

Quisiera agradecer a Dios, por regalarme la oportunidad de superarme y cumplir cada uno de mis objetivos, por guiarme siempre en mi caminar y regalarme la gran oportunidad de ingresar al grandioso mundo del saber.

De igual manera a mi Director de tesis Ing. Manuel Almeida y asesora la Ing. Sandrita López, por guiarme, aconsejarme y más que docentes supieron formar una gran persona creando un gran lazo de amistad, confianza y cariño.

A la Ing. Alicia Zavala por sus consejos y sus palabras de ánimo en los momentos de aflicción por que como se dice: Un consejo vale más que todo el dinero del mundo.

Carla Flores Pino.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación a mis padres y hermano que con sus consejos, sus palabras, su guía y amor supieron encaminar y formar una mujer de bien capaz de alcanzar sus sueños, sus metas y anhelos inculcándome siempre que el rendirse no es una opción.

A mi prima y hermana Ing. Verónica Pino por sus consejos, sus palabras, su apoyo incondicional, por ser esa persona que estuvo a mi lado cuando más necesité, su ejemplo hicieron que siga sin desmayar porque ella me enseñó que no existen obstáculos para lograr lo que te propones.

A mí amada familia tía Margarita y mis primas Gaby y Victoria, gracias a ustedes y a su vivo ejemplo de lucha constante y perseverancia comprendí que la vida se trata de aquello, de luchar y esforzarse por lo que se quiere alcanzar, a ustedes gracias por todo su amor y comprensión desde el día que nací.

A mis amigas parte importante de mi vida, que me acompañaron en este largo caminar y fueron parte de recuerdos y experiencias que jamás olvidaré, a ustedes: Josselyn, Adriana, Karina, Erika, gracias amigas.

Carla Flores Pino.

CONTENIDO

	Pág.
Resumen	V
Abstract	vi
Lista de cuadros	vii
Lista de gráficos	viii
Lista de anexos	lx
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	3
A. SITUACIÓN PESQUERA DEL PAIS	3
1. <u>Características del sector ecuatoriano</u>	3
2. <u>Ubicación geográfica del sector pesquero en el país</u>	3
3. <u>Producción nacional</u>	3
4. <u>Contaminación ambiental en el sector pesquero</u>	4
B. ESCAMAS DE PESCADO	6
1. <u>Definición</u>	6
2. <u>Composición química</u>	6
3. <u>Tipos de escamas</u>	7
a. Placoides	7
b. Cosmoides	7
c. Ganoides	8
d. Cicloides y ctenoides	8
4. <u>Usos de las escamas de pescado en la industria</u>	9
C. PROTEÍNAS	10
1. <u>Definiciones</u>	10
2. <u>Propiedades de las proteínas</u>	11
a. Capacidad amortiguadora	11
b. Solubilidad	11
c. Desnaturalización	11
d. Especificidad	12
3. <u>Estructura</u>	12
4. <u>Clasificación de las proteínas</u>	13

a.	Proteínas simples	13
b.	Proteínas compuestas	14
c.	Proteínas fibrosas	14
d.	Proteínas globulares	14
D.	COLÁGENO	15
1.	<u>Definición</u>	15
2.	<u>Colágeno como proteína estructural</u>	16
3.	<u>Características físico – químicas</u>	17
4.	<u>Tipos y familias</u>	18
5.	<u>Fuentes de obtención</u>	19
6.	<u>Usos y aplicaciones</u>	19
7.	<u>Formas de extracción</u>	21
a.	Hidrólisis para obtención de gelatina	21
b.	Gelatina procedente de subproductos de la pesca	22
c.	Hidrolizados peptídicos a partir de colágeno y gelatina	23
d.	Hidrólisis enzimática	24
E.	RENNINA	26
1.	<u>Definiciones</u>	26
2.	<u>Tipos de rennina</u>	26
a.	Rennina obtenida del estómago bovino	26
b.	Rennina producida por fermentación	27
3.	<u>Características de la rennina</u>	28
4.	<u>Aplicaciones de la rennina</u>	28
III.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	30
A.	LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	30
B.	UNIDADES EXPERIMENTALES	30
C.	MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES	31
1.	<u>En la elaboración de la harina de escama de pescado</u>	31
a.	Equipos	31
b.	Materiales	31
c.	Materia prima	31
2.	<u>En la extracción del colágeno de las escamas</u>	31
a.	Equipos	31

b.	Materiales	32
c.	Materia prima	32
d.	Reactivos	32
3.	<u>Para la limpieza</u>	32
4.	<u>De oficina</u>	33
5.	<u>Instalaciones</u>	33
D.	TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	33
E.	MEDICIONES EXPERIMENTALES	34
1.	<u>VARIABLES FÍSICAS</u>	34
2.	<u>VARIABLES QUÍMICAS</u>	34
3.	<u>ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO</u>	34
4.	<u>ANÁLISIS ECONÓMICO</u>	35
F.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	35
1.	<u>Esquema de análisis de varianza (ADEVA)</u>	35
G.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	36
1.	<u>Programa sanitario</u>	36
2.	<u>Obtención de la harina de escama de pescado</u>	36
3.	<u>Extracción de colágeno de harina de escama</u>	37
a.	Diagrama de flujo	39
H.	METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN	40
1.	<u>Valoración física</u>	40
2.	<u>Valoración química</u>	41
3.	<u>Valoración organoléptica</u>	41
4.	<u>Análisis Económico</u>	42
IV.	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	43
A.	ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO DEL COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO NIVELES DE RENNINA	43
1.	<u>Contenido de humedad (%)</u>	43
2.	<u>Contenido de materia seca (%)</u>	44
3.	<u>Contenido de proteína (%)</u>	45
4.	<u>Contenido de cenizas (%)</u>	47
5.	<u>pH</u>	47

6.	<u>Conductividad</u>	48
B.	ANÁLISIS SENSORIAL DEL COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA	49
1.	<u>Olor, 5 puntos</u>	50
2.	<u>Color, 5 puntos</u>	51
3.	<u>Apariencia, 5 puntos</u>	52
4.	<u>Características organolépticas totales, 15 puntos</u>	53
C.	ANÁLISIS ECONÓMICO	54
1.	<u>Costo de producción</u>	54
2.	<u>Rendimiento escama/colágeno</u>	55
3.	<u>Beneficio/Costo</u>	55
V.	<u>CONCLUSIONES</u>	57
VI.	<u>RECOMENDACIONES</u>	58
VII.	<u>LITERATURA CITADA</u>	59
	ANEXOS	

RESUMEN

En el Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la ESPOCH, se extrajo colágeno de escamas de pescado con diferentes niveles de rennina (5, 10 y 15%), utilizándose 15 unidades experimentales divididas en 3 tratamientos con 5 repeticiones, que se distribuyeron bajo un DCA; los resultados se analizaron mediante ADEVA, y la prueba de Tukey. Encontrándose que los niveles de rennina no influyeron en la composición bromatológica, pero la conductividad fue mayor al utilizar 15 % rennina. En la valoración organoléptica del colágeno no se observaron diferencias estadísticas aunque numéricamente con el 5 % se obtuvo una mejor aceptación (12.50/15 puntos). Con el empleo del 15 % el costo de producción fue menor (0.09 USD/g) a su vez que presentó la mayor rentabilidad económica (B/C de 1.43), por lo que se recomienda utilizar este nivel de rennina para la extracción del colágeno de las escamas de pescado.

Palabras claves:

Extracción, rennina, escamas de pescado, colágeno.

ABSTRACT

At ESPOCH, Animal Science Faculty, Animal Nutrition and Bromatology Laboratory, collagen from fish scale using different levels of Renin (5, 10 and 15%) was extracted using 15 experimental units divided into three treatments with 5 repetitions that were distributed under a completely randomized design; the results were analyzed through ADEVA and Tukey test. It was evidenced that the levels of Renin did not influence in the Bromatological composition, but conductivity was higher when using Renin at 15%. The collagen organoleptic valuation did not reflect any statistical difference although numerically with renin at 5% it was possible to obtain a better acceptance (12.50/15 points). With a use of 15% the production cost was less (0.09 dollars/gram). At the same time a better economic profitability was achieved (Cost/benefit 1.43), thus it is recommended to use this level of renin to extract collagen from fish scale.

Key Words:

Extraction, renin, fish scales, collagen.



LISTA DE CUADROS

N°		PÁG
1.	PRODUCCIÓN PESQUERA EN EL ECUADOR.	4
2.	COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DE ESCAMAS DE TILAPIA ROJA.	6
3.	CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA.	30
4.	ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.	34
5.	ESQUEMA DEL ADEVA.	35
6.	FORMULACIÓN PARA LA EXTRACCIÓN DE COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA PARA CADA TRATAMIENTO.	40
7.	PARÁMETROS DE CALIFICACIÓN PARA LOS ATRIBUTOS SENSORIALES DEL COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA..	42
8.	COMPOSICIÓN PROXIMAL DEL COLÁGENO USANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA.	43
9.	VALORACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA.	50
10.	EVALUACIÓN DEL BENEFICIO/COSTO DEL COLÁGENO EXTRAÍDO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO CON DISTINTOS NIVELES DE RENNINA.	55

LISTA DE GRÁFICOS

N°		Pág.
1.	Fórmula estructural de la prolina y la hidroxiprolina.	12
2.	Diagrama del proceso de extracción de colágeno de las escamas de pescado usando diferentes niveles de rennina.	39
3.	Contenido de humedad del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	44
4.	Contenido de materia seca del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	45
5.	Contenido de proteína del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	46
6.	Contenido de Cenizas del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	47
7.	pH del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	48
8.	Conductividad del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	49
9.	Olor del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	51
10.	Color del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	52
11.	Apariencia del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	53
12.	Valoración organoléptica total (sobre 15 puntos), del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.	54

LISTA DE ANEXOS

N°

1. Test de valoración organoléptico
2. Reporte de los resultados del análisis bromatológico del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
3. Análisis estadístico del contenido de humedad (%), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
4. Análisis estadístico del contenido de materia seca (%), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
5. Análisis estadístico del contenido de proteína (%), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
6. Análisis estadístico del contenido de cenizas (%), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
7. Análisis estadístico del pH, del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
8. Valores promedios del análisis organoléptico del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
9. Análisis estadístico de la apariencia (sobre 5 puntos), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
10. Análisis estadístico del color (sobre 5 puntos), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
11. Análisis estadístico del olor (sobre 5 puntos), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.
12. Análisis estadístico de la valoración organoléptica total (sobre 15 puntos), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

I. INTRODUCCIÓN

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO (2014), menciona que los recursos pesqueros se han convertido en uno de los eslabones más importantes en la economía de varios países alrededor del mundo. Se estima que la producción mundial de recursos pesqueros es de 157969 millones de toneladas, de las cuales 86.2% son para consumo humano, considerándose el restante 13.8%, 21700 millones de toneladas correspondiente a desechos no alimentarios, como esqueletos, vísceras y escamas.

La industria pesquera produce grandes volúmenes de desperdicios, que pueden ser utilizados como materia prima, para varios procesos industriales como la obtención de hidrolizados de gelatina, obtenida a partir de las pieles del pez gato, como fuente potencial de alimentos funcionales para la promoción de la salud, así como también elaboración de harinas de residuos de pescado que han sido ampliamente utilizadas en alimentación animal, debido a su elevado contenido proteico y a su completa composición de aminoácidos esenciales. Actualmente la escama está siendo usada como alimentación en codornices con el fin de mejorar la calidad de sus huevos, (Hurtado, N. y Libardo, V. 2013).

Las escamas representan aproximadamente el 5 % del peso vivo del pescado, las cuales son ricas en proteínas como el colágeno, siendo este principal componente de las escamas, que puede ir del 41 al 84%. El contenido proteico depende de la especie de pez; así como la zona en la que hayan sido capturados o de la región de cultivo y los alimentos que los organismos hayan consumido durante su vida, (Wang, L. et al. 2008).

Existen pocos estudios en donde la proteína de las escamas de pescado ha sido utilizada con fines alimenticios, farmacéuticos o en cosmetología, debido a la pobre innovación de metodologías de extracción del mismo, siendo la utilización de enzimas las opciones de mejora en estas técnicas de obtención como la pepsina y las proteasas utilizadas en investigaciones relacionadas con el tema, dando paso al uso de otras enzimas como la rennina o llamada también quimosina con el fin de ampliar nuevas inventivas y su mejoramiento.

Por lo mencionado anteriormente se planteó la elaboración del presente trabajo de titulación, en busca del potencial uso de las escamas en extracción de colágeno, las mismas que en la actualidad son consideradas como desecho. Procedimiento que llevará a cabo utilizando una enzima altamente comercial y económicamente accesible, logrando de esta forma favorecer en la disminución a la contaminación ambiental evitando que este subproducto que se desecha indiscriminadamente genere la menor cantidad de impactos negativos al medio ambiente, y a su vez obtener un beneficio dándole un uso potencial a esta materia prima aún sin explotar.

Por lo que se plantearon los siguientes objetivos:

- Extraer colágeno de las escamas de pescado utilizando diferentes niveles de rennina.
- Evaluar el efecto de diferentes niveles de rennina 5, 10, 15% en la extracción de colágeno de las escamas de pescado.
- Evaluar la composición fisicoquímica y organoléptica del colágeno obtenido de las escamas de pescado.
- Determinar el rendimiento escama-colágeno, costo de producción y su rentabilidad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. SITUACIÓN PESQUERA EN EL PAIS

1. Características del sector ecuatoriano

La captura de especies de géneros Thunnus (albacoras) y Katsuwomus (bonito barrilete), junto a Coryphaena hippurus (dorado), y miembros de la familia Istiophoridae (picudos) constituyen principalmente las especies que sustentan las exportaciones de fresco congelado y conservas, así como también sostienen en gran medida el mercado interno. Por otro lado es de considerarse que dentro de las operaciones pesqueras, un número importante de tiburones es capturado mediante el uso de técnicas artesanales e industriales (redes y palangres), que no seleccionan el recurso a extraer, (Pro Ecuador, 2013).

Se estima que la pesca comercial de peces pequeños se inició en la década de los 60`s, posterior al colapso de la pesquería de anchoveta (década 70´s) en aguas peruanas, gran parte de embarcaciones con casco de acero y de mayor autonomía fueron adquiridas por empresas ecuatorianas, lo que provocó un significativo incremento de la capacidad de pesca de esta flota. Paralelamente se desarrolló la ampliación y mejoras en la infraestructura de las fábricas harineras y conserveras ya existentes, (Pro Ecuador, 2013).

2. Ubicación geográfica del sector pesquero en el país

El sector pesca tienen un amplio rango de operatividad, ya que se puede pescar en toda extensión costera del país y también en la zona insular, Islas Galápagos. Por eso en estas regiones se han desarrollado ciudades dedicadas a la pesca, como es el caso de Manta, (Pro Ecuador, 2013).

3. Producción nacional (en kilos o toneladas, superficie y rendimiento por hectárea cultivada)

A continuación (Cuadro 1) se describe de una manera más detallada acerca de la

producción pesquera nacional para los años que van de 1980 al 2011, según el Instituto de Promoción y Exportaciones e Inversiones, datos que fueron reportados en el año 2013.

Cuadro 1. PRODUCCIÓN DE PESQUERA EN EL ECUADOR

DATOS DE PRODUCCIÓN DE PESCA EN EL ECUADOR						
Miles de Toneladas						
Años	1980	1990	2000	2009	2010	2011
Producción	639.50	366.60	657.80	717.00	671.10	817.40
Navegación fluvial	0.50	1.90	9.70	39.60	48.80	49.30
Marino	639.00	364.70	648.10	677.40	622.30	768.10
Acuicultura	9.60	77.70	61.30	218.40	271.90	308.90
Navegación fluvial	0.40	1.30	9.30	39.30	48.60	48.90
Marino	9.20	76.40	52.00	179.10	223.30	260.00
Capturado	630.00	288.90	596.50	498.60	399.20	508.50
Navegación fluvial	0.20	0.60	0.40	0.30	0.20	0.40
Marino	629.80	288.30	596.10	498.30	399.00	508.10
TOTAL						3269.60

Fuente: Pro Ecuador (2013).

La actividad pesquera está orientada a la extracción de:

- Recursos transzonales y altamente migratorios (atunes principalmente)
- A las poblaciones de peces pelágicos pequeños (enlatados y harina de pescado)
- Especies demersales o pesca blanca (productos fresco y/o congelado entero o en filetes)

Algunas de las pesquerías tienen una mayor relevancia en términos de su valoración comercial, como por ejemplo la del camarón y la del atún (tanto industrial como artesanal), por la línea de productos que presentan para los mercados nacional e internacional, (Pro Ecuador, 2013).

4. Contaminación ambiental en el sector pesquero

En el Ecuador consumen grandes cantidades de diferentes especies de pescado,

generando a su vez enormes volúmenes de desechos, que van del 50 al 70% del peso inicial del pescado; produciendo malos olores y contaminación; de estos, más del 30% lo constituyen la piel, escamas y hueso. Aproximadamente, el 5% corresponde a las escamas de pescado, las cuales son ricas en proteínas, como por ejemplo, el colágeno. Debido a lo anterior, la utilización optimizada de estos desechos, es una opción prometedora, especialmente en la obtención de productos de valor agregado como la proteína, (Pati, F. 2010).

La industria dedicada al procesamiento de productos pesqueros genera una gran cantidad de residuos, tales como pieles, espinas, escamas, vísceras, cabezas y restos de músculo; residuos que dependiendo de la especie y el tipo de procesamiento pueden ser entre 30 y 50% del peso inicial. Sin embargo estos desechos son una gran fuente de minerales, proteínas, grasa, pigmentos, vitaminas, etc., por lo que una parte de los mismos se utiliza para la alimentación animal (peces, cerdos) y para la elaboración de fertilizantes; la parte no aprovechada constituye una importante fuente de contaminación ambiental. Últimamente se han desarrollado diversas estrategias para utilizar los residuos de pescados y mariscos, obteniendo productos de alto valor comercial tales como colágeno y gelatina procedentes de pieles, espinas y escamas; productos reestructurados a partir de cortes de músculo; lípidos y proteínas principalmente a partir de vísceras; hidrolizados y péptidos bioactivos, (Gómez, J. y Benítez, M. 2011).

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

B. ESCAMAS DE PESCADO

1. Definición

Miranda, R. (2002), define a las escamas como "laminas duras, más o menos

flexibles, que trazan un gran número de líneas concéntricas y de estrías radicadas, superpuestas como las tejas de un tejado" formadoras del exoesqueleto de los peces.

Las escamas son huesos tegumentarios laminares de origen dérmico incluidos en una bolsa epidérmica de tejido conjuntivo fibrilar, derivadas del exoesqueleto de los primitivos Ostracodermos y los Peces Placodermos. Tanto la cara interna como la externa están cubiertas por una lámina de osteoblastos, activos en los márgenes de la escama que provocan su crecimiento continuo, (Miranda, R. 2002).

2. Composición química

Según los diferentes autores definen a la escama de pescado, como un subproducto altamente proteico como citaremos a continuación a varios de ellos

La escama de pescado contiene sustancias inorgánicas como el fosfato de calcio (hidroxiapatita) y el carbonato de calcio de potencial uso en la alimentación animal. La escama en estado crudo y procesado de cachama y tilapia contiene 40% de calcio y 10% de fósforo, (Gómez, J. y Benítez, M. 2011).

Por otra parte Quintero, J y Zapata, J (2016), al realizar un análisis para determinar la composición química de las escamas de tilapia roja obtuvieron resultados que se aprecian en el Cuadro 2.

Cuadro 2. COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DE ESCAMAS DE TILAPIA ROJA

COMPOSICIÓN	ESCAMAS
% Humedad	15.18
% Materia Seca	84.82
% Cenizas	32.08
% Proteína	67.96

Fuente: Gómez, J. y Benítez, M (2011).

3. Tipos de escamas

a. **Placoides**

También llamadas dentículos dérmicos, las escamas placoides se encuentran en los peces cartilagosos: tiburones y rayas, a excepción de las quimeras. Estructuralmente, son homólogas a los dientes de los vertebrados ("dentículo" se traduce como "diente pequeño"), que tienen una pulpa dentaria central con vasos sanguíneos, rodeada por una capa cónica de dentina, que se encuentra en la parte superior de una placa basal rectangular que descansa en la dermis. La capa más externa está compuesta por Vitrodernia por la fusión de la capa media con la sangre, una sustancia inorgánica en gran medida similar al del esmalte dental. Las escamas placoides no pueden crecer en tamaño, sino que se van añadiendo a medida que aumenta el tamaño del pez, (Quintero, J y Zapata, J. 2016).

Los tiburones están totalmente cubiertos por escamas placoides. Estas escamas crean vórtices pequeños que reducen la resistencia para hacerles nadar de forma más eficiente y tranquila en comparación con los peces óseos. La cantidad de cobertura de las escamas es mucho menor en rayas y quimeras. La textura rugosa, como papel de lija de la piel de los tiburones y rayas, junto con su dureza, la ha llevado a ser valorada como cuero. Se la suele llamar zapa y una de sus muchas aplicaciones, por su resistencia a resbalar, se encontraba en la fabricación histórica de empuñaduras de espadas, (Sharpe, P. 2001).

b. **Cosmoides**

Sharpe, P. (2001) Indica que estas escamas cosmoides en los sarcopterigios: celacantos y peces pulmonados, probablemente se derivaron de la fusión de escamas placoides. Están compuestas de una capa de denso hueso laminar llamado isopedina, sobre la que se dispone una capa de hueso esponjoso con vasos sanguíneos. Las capas de hueso están cubiertas por una sustancia similar a la dentina llamada cosmina y un recubrimiento superficial exterior de vitrodentina.

El celacanto tiene cuatro capas de escamas cosmoides. Las escamas del celacanto actual están modificadas por la pérdida de la capa de cosmina, mientras que las escamas de peces pulmonados actuales están modificadas por la pérdida de la capa de dentina. Las escamas cosmoides aumentan de tamaño según va creciendo la capa de hueso laminar, (Sharpe, P. 2001).

c. Ganoides

Las escamas ganoides se encuentran en los esturiones, peces espátula, pejes lagartos, amias calva y bichires. Se derivan de las escamas cosmoides, con una capa de dentina en lugar de cosmina y una capa de sal inorgánica del hueso llamada ganoina, en lugar de vitrodentina. La mayoría tienen forma de diamante y están unidas por articulaciones tipo clavija y zócalo, (Mathews, C. et al. 2002).

En las agujas de mar, las escamas ganoides romboidales están muy pegadas al cuerpo y se unen con fibras para formar una armadura tipo cota de malla, fuerte pero poco flexible. En los esturiones, las escamas se amplían en placas de armadura en los laterales y atrás, mientras que en la amia, las escamas se reducen considerablemente en espesor para parecerse a escamas cicloides, (Mathews, C. et al. 2002).

d. Cicloides y ctenoides

Las escamas cicloides y ctenoides se encuentran en los teleósteos, derivado de los peces con espinas óseas en sus aletas

Las escamas cicloides tienen bordes lisos, mientras que las escamas ctenoides tienen dientes diminutos llamados ctenii en el borde posterior, lo que les da una textura áspera, en forma de peine. Estas escamas casi no contienen hueso, estando compuestas de una capa superficial que contiene hidroxapatita y carbonato de calcio y una capa más profunda, compuesta en su mayoría de colágeno. El esmalte de los otros tipos de escama se reduce a crestas superficiales y ctenii. La mayoría de los actinopterigios tienen escamas ctenoides. En los peces planos, algunas especies tienen escamas ctenoides en el lado de

los ojos y escamas cicloides en el lado ciego, mientras que otras especies tienen escamas ctenoides en los machos y escamas cicloides en las hembras, (Pérez, Z. y García, M. 2009).

A su vez, las escamas ctenoides pueden subdividirse en tres tipos:

- Escamas crenadas, donde el margen de la escama tiene muescas y proyecciones.
- Escamas espinoides, donde la escama tiene espinas que se continúan con la misma escama.
- Escamas ctenoides "verdaderas", donde las espinas en la escama son estructuras diferentes.

Las escamas cicloides y ctenoides se superponen, haciéndolas más flexibles que las escamas cosmoides y ganoides. Crecen en tamaño a través de adiciones al margen creando bandas de crecimiento estacional desigual llamados annuli. Estas bandas se pueden utilizar para calcular la edad de los peces, al modo como de manera similar se hace con los troncos de los árboles. Así, varias bandas muy espaciadas, indicarán un crecimiento rápido, (Pérez, Z. y García, M. 2009).

4. Usos de las escamas de pescado en la industria

En la actualidad las escamas de pescado no son explotadas en nivel industrial, destinándose sus usos a otros tipos de fines como en alimentación animal como ejemplo es el caso de productores de avícolas en donde incorporan escamas de pescado a la alimentación de sus codornices quienes al buscar una mejora en los huevos que las mismas producen, adicionan este subproducto en polvo en busca de un mejoramiento de las cáscaras de sus huevos,

Por otra parte las escamas son tan poco explotadas que en la actualidad en nuestro país se las usa como bisutería, creando desde cadenas hasta pulseras y aretes que son altamente comercializados en la zona costera del país, no dándole

un uso realmente relevante a este subproducto aún sin explotar, (Pérez, Z. y García, M. 2009).

C. PROTEÍNAS

1. Definiciones

Todas las proteínas son polímeros, y los α -aminoácidos son los monómeros que se combinan para formarlas. Es de nuestro especial interés la prolina, un aminoácido cíclico, que posee características similares a los aminoácidos alifáticos como la alanina y la glicina. La prolina tienen la capacidad de modificarse químicamente una vez se ha ensamblado en las proteínas, para convertirse en 4-hidroxiprolina, (Mathews, C. et al. 2002).

Las moléculas proteicas poseen cuatro niveles de organización estructural: primaria (secuencia), secundaria (plegado local), terciaria (plegado global) y cuaternaria (asociación de varias cadenas). En el primer nivel de organización, la secuencia de aminoácidos, viene dada por la secuencia de DNA del gen para cada proteína. La estructura primaria es fundamental para la forma tridimensional que tendrá la proteína. Cualquier modificación en la secuencia de aminoácidos podría ocasionar un cambio en la estructura tridimensional y afectará la función biológica de la proteína. Pueden formarse puentes de hidrógeno entre el hidrógeno del amino de un aminoácido y el oxígeno del carboxilo de otro. A causa de estas uniones la cadena polipeptídica se pliega, adoptando dos posibles configuraciones espaciales que constituyen lo que se conoce como estructura secundaria de una proteína. Estas dos configuraciones son las llamadas α -hélice y β -hoja plegada, (Mathews, C. et al. 2002).

La α -hélice, se caracteriza por formar una estructura geométrica en espiral, muy uniforme, en la que cada vuelta está constituida por 3,6 aminoácidos. Esta hélice se mantiene mediante puentes de hidrógeno entre el hidrógeno del grupo amino del enlace peptídico de un aminoácido y el oxígeno del grupo carboxilo del cuarto residuo más delante de la hélice. Dentro de este grupo se pueden mencionar

proteínas estructurales como el colágeno, la queratina, elastina, (Mathews, C. et al. 2002).

2. Propiedades de las proteínas

Las proteínas son las biomoléculas más complejas, de todas las moléculas a nivel celular, además son las más abundantes y se encuentran en todas las células. Todas las proteínas están compuestas por hidrogeno, carbono, oxígeno y nitrógeno. Algunas presenta azufre y dependiendo de su constitución también pueden contener fosforo, calcio, hierro, zinc y molibdeno. La mayor parte de las proteínas son solubles en agua o soluciones salinas y son muy poco solubles en disolventes orgánicos, (Peña, A. 1995).

a. Capacidad amortiguadora

Las proteínas son anfóteros es decir pueden comportarse como acido o como base dependiendo las condiciones del medio y para esto ceden o adoptan protones (H^+) del medio, (Serrano, J. 2011).

b. Solubilidad

Al adoptar una forma plegada y esférica las proteínas se vuelven solubles en el agua debido a los radicales (-R) libres pertenecientes a los aminoácidos que conforman a la proteína, estos radicales al ser liberados forman enlaces débiles con las moléculas de agua, (Serrano, J. 2011).

c. Desnaturalización

Las proteínas al estar expuestas a diferentes agentes como pH, calor, salinidad; entre otros se producen un rompimiento en sus estructuras secundarias, terciarias y cuaternarias permaneciendo solamente la estructura primaria. La estructura primaria está representada por la secuencia en línea de los aminoácidos que forman a la proteína, esta secuencia es responsable de la diferenciación de cada proteína, (Serrano, J. 2011).

d. Especificidad

La especificidad es la propiedad más característica de las proteínas, cada individuo es capaz de sintetizar sus propias proteínas de tal manera que dentro de una misma especie se pueden encontrar diferencias a nivel de las proteínas entre los diferentes individuos; lo que no sucede con los lípidos que son idénticos en todas las especies. La especificidad de las proteínas es el resultado de las diversas combinaciones entre los aminoácidos que lo conforman; el ADN perteneciente a cada individuo es el encargado de definir las diferentes combinaciones, (Serrano, J. 2011).

3. Estructura

(Mathews, C. et al. 2002) Indica que todas las proteínas son polímeros, y los α -aminoácidos son los monómeros que se combinan para formarlas. Es de nuestro especial interés la prolina, un aminoácido cíclico, que posee características similares a los aminoácidos alifáticos como la alanina y la glicina. La prolina tiene la capacidad de modificarse químicamente una vez se ha ensamblado en las proteínas, para convertirse en 4-hidroxiprolina, como se ilustra en el Gráfico 1.

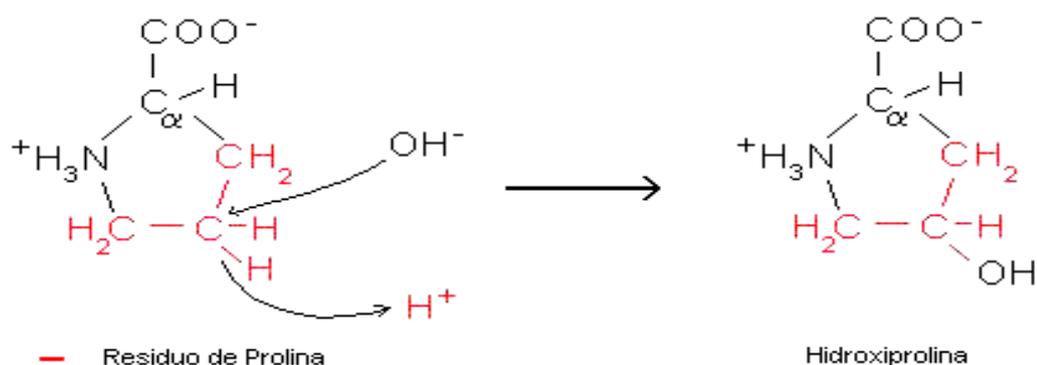


Gráfico 1. Fórmula estructural de la prolina y la hidroxiprolina

Las moléculas proteicas poseen cuatro niveles de organización estructural: primaria (secuencia), secundaria (plegado local), terciaria (plegado global) y cuaternaria (asociación de varias cadenas). En el primer nivel de organización, la secuencia de aminoácidos, viene dada por la secuencia de DNA del gen para

cada proteína. La estructura primaria es fundamental para la forma tridimensional que tendrá la proteína. Cualquier modificación en la secuencia de aminoácidos podría ocasionar un cambio en la estructura tridimensional y afectará la función biológica de la proteína. A medida que la cadena de aminoácidos se va ensamblando, empiezan a tener lugar interacciones entre los diversos aminoácidos de la cadena. Pueden formarse puentes de hidrógeno entre el hidrógeno del amino de un aminoácido y el oxígeno del carboxilo de otro, (Mathews, C. et al. 2002).

A causa de estas uniones la cadena polipeptídica se pliega, adoptando dos posibles configuraciones espaciales que constituyen lo que se conoce como estructura secundaria de una proteína. Estas dos configuraciones son las llamadas α -hélice y β -hoja plegada. La α -hélice, se caracteriza por formar una estructura geométrica en espiral, muy uniforme, en la que cada vuelta está constituida por 3,6 aminoácidos. Esta hélice se mantiene mediante puentes de hidrógeno entre el hidrógeno del grupo amino del enlace peptídico de un aminoácido y el oxígeno del grupo carboxilo del cuarto residuo más delante de la hélice. Dentro de este grupo se pueden mencionar proteínas estructurales como el colágeno, la queratina, elastina, (Mathews, C. et al. 2002).

4. Clasificación de las proteínas

a. Proteínas simples

Teijón, J. y Garrido, A. (2011), Indican que las proteínas que están compuestas únicamente por aminoácidos o sus derivados. Dentro de estas tenemos a:

- Albúminas
- Glutelinas
- Prolaminas
- Histonas
- Protaminas

b. Proteínas compuestas

Son las proteínas que además de estar compuestas por aminoácidos también incluyen en su estructura componentes orgánicos o inorgánicos denominados grupos prostéticos. A las proteínas conjugadas se las denomina de acuerdo a los grupos prostéticos que lo constituye, (Teijón, J. y Garrido, A. 2011).

- Nucleoproteínas
- Glucoproteínas
- Fosfoproteínas
- Cromoproteínas
- Lipoproteínas
- Metaloproteínas
- Hemoproteínas
- Flavoproteínas

c. Proteínas fibrosas

Teijón, J. y Garrido, A. (2011), Indican que son cadenas polipeptídicas paralelas que se enrollan sobre un mismo eje formando una “microfibra”. Las proteínas fibrosas son los componentes principales del tejido conjuntivo en los seres vivos.

- Colágeno
- Elastina
- Queratinas

d. Globulares

Teijón, J. y Garrido, A. (2011), Señalan que son cadenas polipeptídicas que se enrollan entre si formando esferas o glóbulos compactos dentro de estas

tenemos:

- Enzimas
- Anticuerpos

D. COLÁGENO

1. Definición

Muyonga, D. (2008), reporta que el colágeno es una de las proteínas más abundantes en la matriz extracelular son aquellas que pertenecen a la familia del colágeno, es la proteína más abundante de origen animal que constituye aproximadamente el 25 - 30% de todas las proteínas de los organismos animales, es un componente importante de todos los tejidos conectivos del cuerpo (músculos, dientes, huesos y piel) pero se concentra especialmente en los tejidos asociados a la piel y los huesos y también se encuentra en el tejido intersticial de prácticamente todos los órganos, donde pueden contribuir a la estabilidad de los tejidos y órganos, y mantener su estructura e integridad.

El colágeno consta de tres cadenas de aminoácidos enlazadas o triple hélice, lo que le confiere una alta resistencia mecánica y capacidad a la retención de humedad. La principal función del colágeno es mantener la estructura de los tejidos animales y mejorar la fuerza, resistencia y flexibilidad de los tejidos, (Gelse, K. et al. 2003).

Stryer, L. (2008), por otro lado indica que el colágeno es un conjunto de proteínas fibrosas se encuentra formando la matriz de los huesos, dientes, cartílagos, tendones uñas, piel y vasos sanguíneos. La unidad fundamental del colágeno es el tropocolágeno formado por tres cadenas de polipéptidos de similar tamaño cada una de ellas es una hélice levógira y se van entrelazando entre sí; el tipo de cadena forma el tropocolágeno determina el tipo de colágeno. El colágeno está formado por glicina 33%, prolina 12%, hidroxiprolina 20% e hidroxisilina 10%, presente en solo algunas proteínas.

Por otra parte Shoulders, M. y Raines, R. (2009), indican que el colágeno es probablemente la proteína más abundante en el organismo de los vertebrados. Su molécula consiste en tres cadenas polipeptídica helicoidales denominadas cadenas α , cada una de éstas conformadas por aproximadamente 1000 aminoácidos. Estas cadenas se enrollan formando una triple hélice que se mantiene mediante puentes de hidrógeno intermoleculares. Hasta el momento se han identificado 46 diferentes cadenas polipeptídicas en vertebrados, las cuales componen 28 diferentes tipos de colágeno. Cada uno de estos tipos de colágeno lleva a cabo funciones especializadas en diversos tejidos y tienen modos distintivos de organización supramolecular. Los más abundantes forman la base estructural de la piel, tendones, huesos y cartílagos entre otros tejidos, concentrándose en mayor proporción los de tipo I, II y III, siendo el colágeno de tipo I el predominante en la mayoría de animales.

2. Colágeno como proteína estructural

La molécula de tropocolágeno es la unidad básica de la fibra de colágeno, es una hélice triple de tres cadenas polipeptídicas, cada una de ellas con aproximadamente 1000 residuos. Esta estructura helicoidal triple, es característica del colágeno. Las cadenas individuales son hélices orientadas a la izquierda, con aproximadamente 3,3 residuos/vuelta. Tres de estas cadenas se enrollan unas alrededor de las otras hacia la derecha, con enlaces de hidrogeno que se extienden entre ellas, (Benítez, M. y Gómez, J. et al. 2008).

El examen del modelo revela que cada tercer residuo, que debe encontrarse cerca del centro de la hélice triple, solo puede ser glicina. Cualquier cadena lateral distinta de Gly sería demasiado voluminosa. La formación de las hélices individuales del tipo colágeno también resulta favorecida por la presencia de prolina o hidroxiprolina en la molécula de tropocolágeno. Un conjunto que se repite en la secuencia es la forma Gly-X-Y, donde X suele ser prolina e Y, prolina o hidroxiprolina. Para realizar adecuadamente sus múltiples funciones, el colágeno presenta un gran número de variantes genéticas en los organismos superiores, (Benítez, M. y Gómez, J. et al. 2008).

El colágeno es excepcional en su extensa modificación de prolina a hidroxiprolina. La mayoría de los enlaces de hidrógeno entre las cadenas en la hélice triple se establecen entre protones amidas y oxígenos carbonilo, aunque los grupos –OH de la hidroxiprolina también parecen participar en la estabilización de la estructura. Las moléculas individuales de tropocolágeno se empaquetan juntas formando una fibra de colágeno de una manera específica. Cada molécula tiene una longitud de aproximadamente 300 nm y se solapa con su vecina en aproximadamente 64 nm, produciendo el aspecto característico de bandas de las fibras. Esta estructura proporciona una resistencia notable: las fibras de colágeno de los tendones tienen una resistencia comparable a la del cable de cobre de alta resistencia, (Benítez, M. y Gómez, J. et al. 2008).

Parte de la dureza del colágeno se debe al entrecruzamiento de las moléculas de tropocolágeno mediante una reacción que utiliza las cadenas laterales de la lisina. Algunas de las cadenas laterales de la lisina se oxidan para dar lugar a derivados aldehídos, que, a continuación, pueden reaccionar con un residuo de lisina o bien unos con otros mediante una condensación aldólica y deshidratación para dar lugar a un entrecruzamiento. Este proceso sigue a lo largo de la vida, y los entrecruzamientos que se acumulan hacen que el colágeno sea cada vez menos elástico y más quebradizo. El colágeno tiene algunas variantes genéticas que identifican los 26 tipos de colágeno designados como tipo I-tipo XXVI. Los diferentes tipos de colágenos se caracterizan por diferencias en sus propiedades físicas, debidas a sus diferencias en la secuencia de aminoácidos, (Benítez, M. y Gómez, J. et al. 2008).

3. Características físico químicas

Las fibras de colágeno son fibras muy flexibles y presentan gran resistencia a la tensión. La ruptura de las fibras de colágeno en los tendones de los seres humanos se presenta al alcanzar una fuerza de cientos de kilogramos por centímetro cuadrado y a pesar de ello solo llegan a alargarse un pequeño porcentaje de su longitud original. Al desnaturalizar el colágeno mediante un proceso de ebullición y posteriormente enfriándose en una solución acuosa, se convierte en gelatina, (Mathews, C. y Christopher, K. 2002).

4. Tipos y familias

Se conocen 19 clases de colágeno que están designadas como tipo I al tipo XIX, aunque en otros artículos se habla de 26 tipos de colágeno genéticamente distintos, que varían considerablemente en su complejidad y la diversidad de su estructura (Bae, I et. 2008). Cada uno de estos tipos de colágeno se encuentra en un lugar diferente del cuerpo y con características específicas. La familia más abundante de colágeno con alrededor del 90% del total es el colágeno fibrilar, el cual incluye el colágeno tipo I, II, III, V y XI, (Gelse, K. et al. 2003).

El colágeno tipo I, es el más abundante y el más estudiado, que forma más del 90% de la masa orgánica de los huesos, y es el principal en la piel, los tendones, ligamentos, la córnea y muchos tejidos conectivos. Su función es la de proporcionar rigidez y tracción en especial en los tendones y en la mayoría de órganos, y en los huesos, este define las propiedades biomecánicas de carga, rigidez torsional y resistencia a la tracción, (Gelse, K. et al. 2003).

El tipo II se encuentra especialmente en el cartílago, cuerpo vítreo y núcleo pulposo; es el componente predominante del cartílago hialino, y además define propiedades biomecánicas como el colágeno tipo I. El colágeno tipo III hace parte importante de las fibras reticulares en los tejidos intersticiales de los pulmones, el hígado, la dermis y el bazo. El tipo V y XI se consideran una subfamilia del colágeno fibrilar pues se mezclan con los tipos mencionados anteriormente y forman condiciones específicas, es el caso de la unión del colágeno tipo V con el tipo I y III, contribuyendo a la matriz orgánica del hueso. El hígado, los pulmones y la placenta y en la córnea. El colágeno tipo II y el tipo XI se distribuyen en el cartílago articular, proveyendo estabilidad de torsión y fuerza de tracción a sus tejidos, (Gelse, K. et al. 2003).

Otra familia del colágeno está comprendida por los tipos IX, XII, XIV, XIX, XX y XXI, los cuales se distribuyen especialmente en el cartílago, córnea y humor vítreo (IX): ligamentos y tendones (XII), la dermis, pared del vaso, placenta, pulmones e hígado (XIV); epitelio de la córnea, piel embrionaria, cartílago esternal y tendón (XX); pared de los vasos sanguíneos (XXI) (Gelse, K. et. 2003). Existen

otros tipos de colágeno como el VI, llamado microfibrilar, que se encuentra en la dermis, cartílago, placenta, los pulmones, la pared del vaso y en el disco intervertebral. El tipo IV, que se encuentra en las membranas basales. Y el colágeno de anclaje tipo VII, ubicado especialmente en la piel, en la mucosa oral, en el cuello uterino y en las uniones dermo – epidérmica, (Gelse, K. et al. 2003).

5. Fuentes de obtención

La principal fuente de extracción de colágeno ha sido comúnmente de los residuos del beneficio de especies bovinas y de la piel, huesos y cartílagos de cerdo, (Wang, L. et al. 2008).

Karim, A. y Brat, R. (2009), Mencionan que estas fuentes tradicionales de colágeno presentan dificultades y son inapropiados para muchos grupos religiosos y étnicos debido a limitaciones socio-culturales. En el caso del judaísmo y el Islam se prohíbe el consumo de productos relacionados con el cerdo, y para los hindúes se prohíbe el consumo de productos relacionados con las vacas. Existen otro tipo de limitaciones como son los costos de obtención de colágeno de bovinos, ya que se ve afectado por el alto valor que tiene el levante de este tipo de animales. Debido a la problemática anterior ha sido de gran importancia encontrar fuentes alternativas de materia prima para la obtención de colágeno. Entre las estudiadas se encuentran las que se pueden obtener del medio acuático como son la piel, huesos y escamas de pescado. Se han realizado diferentes estudios para evaluar la funcionalidad del colágeno de origen de pescado, se han analizado las pieles de pescado de agua dulce y agua salada, piel de tiburón y pieles de diferentes. Estos artículos se han concentrado en analizar el colágeno obtenido y en determinar las condiciones del mismo, también en la mayoría se han propuesto procesos de obtención del colágeno a partir de las pieles de estas especies, (Wang, L. et al. 2008).

6. Usos y aplicaciones

Bae, I. (2008) indica que gracias a las características químicas únicas, el colágeno se ha utilizado en diversos campos de la industria, con aplicaciones en

materiales biomédicos, en medicina, la industria farmacéutica, cosmética y en alimentos. Se han realizado diferentes estudios para demostrar la aplicabilidad del colágeno como biomaterial en la ingeniería de tejidos. Se han demostrado aplicaciones en la ingeniería de tejidos cardiovascular con el desarrollo de un “scaffold” de colágeno, que tiene la función de permitir la adhesión celular y la proliferación de las células específicas del tejido a tratar. También las esponjas de colágeno son usadas comúnmente como biomaterial biodegradable, las cuales se han empleado en implantes de tejido conectivo del hueso, prótesis para la regeneración del nervio y apósitos para heridas. Se ha aplicado en la ingeniería de tejido de cartílago y en la ingeniería de tejido óseo, (Bitar, M. et al. 2007).

En la industria farmacéutica y cosmética tiene gran importancia la aplicación de colágeno, gracias a las bondades que esta proteína tiene. Se ha utilizado para la prevención y tratamiento de arrugas, en la producción de parches para heridas y en el desarrollo de medicamentos con liberación de los principios activos, se han desarrollado también productos como champú, acondicionadores y tratamientos capilares a base de colágeno, (Beltrán, J. 2011).

Pomares, E. (2010), indica que desde hace pocos años se ha empezado a introducir en el mercado de los complementos nutricionales de uso oral, esta aplicación tiene ventajas frente al uso de cremas y lociones ya que el complemento alimenticio penetra hasta las capas más profundas de la piel, gracias a que los aminoácidos que componen el colágeno son absorbidos y utilizados para la regeneración del tejido conjuntivo, en el desarrollo de este producto se ha utilizado el colágeno marino por su mayor disponibilidad en contraposición con el colágeno tradicional de origen bovino.

En el campo alimenticio, existen otro tipo de aplicaciones, como galletas, bebidas refrescantes, o aditivos para todo tipo de bebidas. Estos productos han inundado principalmente el mercado japonés, con el objetivo de prevenir las señales de envejecimiento y permitir que el consumo de colágeno sea algo fácil y delicioso. Las empresas que fabrican estos productos son especialmente del Japón y España, (Pomares, E. 2010).

Respecto al colágeno para el tratamiento de heridas, se han desarrollado productos como parches y apósitos o gasas, los cuales tienen grandes beneficios al momento de la cicatrización. Se ha evidenciado que la fuerza tensil de las cicatrices se aumento en un 40% y también que acelera la reparación tisular, disminución de la respuesta inflamatoria local, beneficia la capacidad para reducir la carga bacteriana e incentiva la formación de tejido conectivo. Lo anterior hace evidente la importancia que tiene la producción de colágeno, ya que es una materia prima importante para diferentes productos cosméticos y farmacéuticos y también es componente importante de productos de mayor valor agregado como los aplicados en la ingeniería de tejidos y el tratamiento de heridas. Para estas aplicaciones tradicionalmente se ha empleado el colágeno de origen bovino y porcino, pero ya se han realizado diferentes análisis de la utilización de fuentes diferentes como la piel de pescado, lo cual ha tenido resultados satisfactorios, (González, J. et al. 2004).

7. Formas de extracción

Existen pocas formas de extracción que se ha utilizado en varias investigaciones mediante hidrólisis a continuación se describen varias de ellas

a. Hidrólisis para obtención de gelatina

La gelatina es una proteína compleja que se obtiene mediante la hidrólisis parcial del colágeno. La estructura de triple hélice del colágeno se desintegra mediante la destrucción de los puentes de hidrógeno y los enlaces hidrofóbicos, seguido del desenredo de las cadenas y la disociación de las moléculas en componentes más pequeños provocando la solubilización del colágeno. La gelatina, por tanto, está constituida por un conjunto de cadenas polipeptídicas que tienen un peso molecular inferior al del colágeno, y dependiendo de la especie y del proceso de extracción puede variar entre ~10 y ~300. Las cadenas de gelatina son altamente solubles y dan lugar a la formación de una red tridimensional en frío, resultado de su tendencia a volver a formar parcialmente la estructura de colágeno nativo. De la extensión en la formación de enlaces y entrecruzamientos en la red dependerá

la fuerza del gel y la estabilidad térmica. Estos dos parámetros son los principales indicadores de la calidad de la gelatina comercial, (Mosquera, M. 2014).

Este biopolímero es ampliamente usado en la industria alimentaria, tanto por sus propiedades funcionales, como por su elevado contenido en proteína. En el campo de la medicina y farmacia, la gelatina es utilizada para múltiples aplicaciones como por ejemplo como hidrogeles, como matriz para implantes, en micro esferas inyectables para la liberación controlada de fármacos y para infusiones intravenosas entre otras. En la industria farmacéutica la gelatina es ampliamente usada para la fabricación de cápsulas blandas y duras, expansores plasmáticos y en la fabricación de apósitos para el tratamiento de heridas, (Mosquera, M. 2014).

Industrialmente, la gelatina se obtiene principalmente a partir de pieles y huesos de cerdo y vacuno, siendo la piel de cerdo la principal fuente, ya que de esta materia prima procede el 44% de la gelatina producida a nivel mundial; mientras que sólo alrededor del 1% de la producción procede de especies distintas a la porcina y vacuna. Sin embargo cada vez existe una mayor demanda de gelatinas obtenidas de fuentes alternativas. Esto se debe a la preocupación y reticencias por parte de ciertos grupos de consumidores con respecto al uso de subproductos procedentes de vacuno y porcino. Tanto el islamismo como el judaísmo prohíben el consumo de productos procedentes de porcino, así como el hinduismo evita el consumo de productos procedentes del cuerpo de la vaca. Si se analiza estos tres sectores, juntos en 2010 representaron el 36.3% de la población mundial, lo que se traducía en 2.510'879.720 personas. Esto ha llevado a los investigadores a buscar nuevas fuentes de colágeno, para obtener gelatina de calidad, siendo la principal alternativa, el colágeno procedente de especies acuáticas, (Mosquera, M. 2014).

b. Gelatina procedente de subproductos de la pesca

La producción industrial de gelatina procedente de subproductos de la pesca ha ido incrementando en los últimos años. Esto responde a la creciente demanda de gelatinas de fuentes distintas a las procedentes de especies terrestres, así como

a la gran cantidad de residuos ricos en colágeno generados por la industria pesquera. De estos, los recortes de pieles, espinas y escamas son las principales fuentes de colágeno, (Mosquera, M. 2014).

Sin embargo, la gran variedad de especies acuáticas dan como resultado gelatinas con muy diversas características. Esto ha despertado el interés dentro de la comunidad científica por caracterizar las gelatinas obtenidas de las diferentes especies, tanto sus características físico-químicas como sus propiedades funcionales, además de optimizar las condiciones de extracción, así como los rendimientos, de este modo, se ha notado que la composición de la molécula de colágeno está relacionada con la temperatura del hábitat de donde proceden las especies, de modo que las gelatinas extraídas a partir de especies de aguas cálidas tienden a poseer mejores propiedades reológicas y mayor termo estabilidad que las gelatinas obtenidas a partir de especies de agua fría. Sin embargo, la calidad de la gelatina dependerá además del tipo de especie, de la edad del animal, del tejido del cual se extrae la gelatina, ya sea piel, espinas o escamas y principalmente del método de extracción. Al aplicar largos tiempos de extracción, así como altas temperaturas, aunque se obtienen mejores rendimientos, producirán una gelatina con un mayor número de cadenas cortas, lo que se traduce en una gelatina de peor calidad. De igual forma, independientemente de si el método de extracción sea ácido o básico, altas concentraciones de ácido o base tendrán el mismo efecto, un mayor rendimiento pero una gelatina de peor calidad. Es por esto que resulta importante la optimización de los procesos de extracción para cada especie y tipo de tejido, (Mosquera, M. 2014).

c. Hidrolizados peptídicos a partir de colágeno y gelatina

Al hidrolizar las proteínas se pueden mejorar diversas características funcionales, tales como la solubilidad, viscosidad, capacidad de agitación y dispersión, características que brindan ventajas para el uso en muchos productos alimenticios frente a las proteínas originales, (Benítez, M. y Gómez, J. et al. 2008).

Por otra parte, al hidrolizar una proteína se mejora su biodisponibilidad. Además, muchos de los péptidos obtenidos producto de la hidrólisis poseen propiedades bioactivas que pueden afectar numerosas funciones fisiológicas en el organismo. La gelatina, que como se mencionó anteriormente es producto de la hidrólisis parcial del colágeno, tiene una larga historia como parte de la dieta humana. Aunque existen evidencias de su uso en países orientales como regulador de la presión sanguínea, y para el tratamiento de hemorragias, el primer efecto benéfico del colágeno conocido en occidente fue publicado por la abadesa alemana Hildegarda de Bingen en 1175, quien describió que el consumo de gelatina mejora el estado de las articulaciones reduciendo el dolor. Actualmente se ha descrito un hidrolizado procedente de colágeno, obtenido por hidrólisis de una gelatina farmacéutica con el uso de una enzima aprobada por la U.S. Food and Drug Administration (FDA) como agente terapéutico de potencial utilidad en el tratamiento de la osteoartritis y osteoporosis, (Mosquera, M. 2014).

Además, se ha descrito que la ingestión oral de péptidos de colágeno afecta varias funciones en el organismo, mostrando efectos positivos en el crecimiento del cabello y sus propiedades, en la calidad de las uñas, así como beneficios en huesos y tendones. En los últimos años se han descrito hidrolizados peptídicos y péptidos procedentes del colágeno con actividades antioxidante, antihipertensiva y anticancerígena, (Mosquera, M. 2014).

d. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis es un proceso químico en el cual, una molécula se rompe en dos partes como consecuencia de la adición de una molécula de agua. La reacción se produce cuando uno de los fragmentos de la molécula original gana un ion hidrógeno (H^+) de la molécula de agua, mientras que el otro fragmento recoge el grupo hidroxilo. Las enzimas son moléculas, en su mayoría de naturaleza proteica, que catalizan las reacciones químicas en los sistemas biológicos. Tienen un gran poder catalítico y poseen un alto grado de especificidad respecto a sus sustratos. Para su nomenclatura, se adoptó un sistema de identificación en el que a cada enzima se le asigna una serie de cuatro dígitos, al que se ha llamado número de la EC (Enzyme Commission). El primer dígito está relacionado con la

reacción química que cataliza la enzima. El segundo dígito de la nomenclatura corresponde a la subclase de enzima; el tercer dígito es una subdivisión y ofrece más información con respecto al sustrato que utiliza la enzima; y finalmente el cuarto dígito indica el número serial de la enzima en el grupo correspondiente. Las enzimas tienen la capacidad de catalizar reacciones químicas de manera muy específica; es decir, su intervalo de acción se limita a un determinado tipo de compuesto que debe reunir ciertas características estructurales para que pueda ser utilizado como sustrato, (Benítez, M. y Gómez, J. et al. 2008).

La reacción de hidrólisis catalizada por una hidrolasa es lo que se conoce como hidrólisis enzimática. Las hidrolasas se dividen en 13 grupos dependiendo del tipo de enlace sobre el que actúan. En la hidrólisis de proteínas se produce la ruptura del enlace peptídico. Como resultado de la hidrólisis enzimática de proteínas se obtienen péptidos y aminoácidos; su composición final dependerá de la fuente proteica, del tipo de enzima o enzimas utilizadas, de las condiciones de hidrólisis y del grado de hidrólisis alcanzado en la reacción. Sin embargo al hidrolizar las proteínas no sólo ocurre un cambio a nivel molecular, también se alteran sus propiedades funcionales, tales como la solubilidad y estabilidad térmica, que se incrementan al hidrolizar la proteína, así como sus propiedades emulsificantes, (Benítez, M. y Gómez, J. et al. 2008).

Además de alterarse sus propiedades reológicas, disminuyendo la viscosidad, se incrementa considerablemente la osmolaridad en los hidrolizados y se modifican sus propiedades organolépticas. Ciertos estudios han demostrado que al reducirse el tamaño molecular de proteínas a péptidos y aminoácidos se reduce la alergenicidad de las proteínas y se incrementa su digestibilidad. Cada una de estas propiedades son aprovechadas en el campo de la alimentación o de la medicina en diferentes áreas, tales como suplementos alimenticios para pacientes con desórdenes digestivos, alergias alimentarias, personas de avanzada edad, deportistas. También se emplean como saborizantes, aditivos para modificar la textura de ciertos alimentos, para la fabricación de suplementos dietéticos para el control de peso, fabricación de piensos para nutrición animal, entre otros usos, (Benítez, M. y Gómez, J. et al. 2008).

Sin embargo los hidrolizados proteicos son mucho más que una fuente de nitrógeno para la dieta. Sirven para el incremento de la producción de anticuerpos monoclonales, además de incrementar la productividad de varios fármacos terapéuticos producidos por células animales y microorganismos recombinantes. También son utilizados en la fabricación de vacunas y como coadyuvantes en las mismas, en la fabricación de probióticos, cultivos iniciadores (fermentos), en fermentaciones industriales como fuente de compuestos nitrogenados, como ingrediente en la fabricación de medios para el cultivo de microorganismos, para regular el crecimiento de plantas e incrementar su resistencia a plagas, y también han sido utilizados en biorremediación impulsando el crecimiento de ciertos microorganismos. (Benítez, M. y Gómez, J. et al. 2008).

E. RENNINA

1. Definiciones

Es una enzima proteasa aspártica encontrada en el cuajo. Es producida por las vacas en el abomaso (la cuarta y última cámara del estómago). La quimosina bovina se puede producir de forma alternativa mediante ADN recombinante en *E. coli*, *Aspergillus niger* var *awamori* y *K. lactis*; estas variedades se agrupan bajo el nombre de quimosinas producidas por fermentación (FPC por sus siglas en inglés). La quimosina industrial es clasificada por la IUBMB (Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular) como una proteasa del tipo aspartilendopeptidasa con el número de identificación EC 3.4.23.4, (Bello, A. 2009).

2. Tipos de rennina

a. Rennina obtenida del estómago bovino

Llamado también cuajo natural, esta quimosina extraída cortando del estómago de los terneros, y cuajo sintético, descubierto hace una década y de presentación en pastillas: es quimosina obtenida a partir de procedimientos de síntesis química sin usar el estómago de terneros como materia prima.

La acción de la quimosina es bien conocida por la industria láctea. Actúa directamente en un punto delimitado de la caseína con calcio. Al alterar dicha molécula se inicia la formación de un gel que atrapa la mayoría de los componentes sólidos de la leche; este gel se contrae poco a poco ayudado por la acidificación previa de la leche por medio de bacterias acidolácticas, y al contraerse va expulsando suero. Al cortar el gel en cubitos, se logra separar entre un 50 y un 90% del contenido inicial del suero de la leche. La efectividad del cuajo está en función de la temperatura, la concentración del sustrato (la leche), concentración de calcio y la acidez. Las temperaturas usuales de coagulación pueden variar entre los 28 °C y los 41 °C, aunque lo más usual es una de 35 °C. Según el tipo de queso se pueden conseguir mezclas de leche con una acidez que puede variar entre los 0,18% de acidez titulable hasta el 0.46%, (Bello, A. 2009).

b. Rennina producida por fermentación

La quimosina producida por fermentación está presente en el mercado desde 1990. FPC es quimosina 100% producida por fermentación de un sustrato por parte de un microorganismo, tiene exactamente la misma secuencia de aminoácidos que la quimosina presente en el cuajo de ternero. La misma puede ser producida por distintos microorganismos. El término FPC es utilizado para diferenciarse de los términos ingeniería genética y proteína ingenierizada que son modificadas por mutación, dando por resultado una quimosina no nativa. (Bello, A. 2009).

EC 3.4.23.4 Quimosina proteasa neonatal se encuentra en mamíferos. Se caracteriza por tener una alta especificidad para coagular la leche y generalmente una baja actividad proteolítica. Quimogen, también denominada proquimosina, es convertida en enzima activa por tratamiento ácido (activación). Esto sucede a través de la forma intermedia pseudoquimosin, a pH 2, cuando la velocidad de activación es rápida, que se convierte en quimosina a un alto pH. La quimosina de ternero es encontrada en dos formas, A y B, (Bello, A. 2009).

Algunas de las ventajas de producir quimosina recombinante para la producción

de quesos es la obtención de un producto en mayor cantidad y con menores pasos de purificación que permiten obtener un proceso con menores costos productivos. A su vez, se logra una independencia en el proceso biotecnológico de la obtención de quimosina de origen animal, con los riesgos sanitarios potenciales que puede ocurrir cuando se emplean productos animales para consumo humano, (Bello, A. 2009).

3. Características de la rennina

La quimosina se sintetiza como pre-pro-quimosina, proteína que tiene en su cadena 58 aminoácidos más que la quimosina activa, y que no tienen actividad proteolítica. Se secreta al estómago como pro-quimosina, también inactiva, tras el corte de 16 aminoácidos, y se transforma en el enzima activo por la eliminación proteolítica de otro fragmento de 42 aminoácidos, quedando con un peso molecular de aproximadamente 30.700. La enzima, como todas las proteínas, puede auto digerirse si se conserva en las condiciones en las que es activo. Puesto que la quimosina se inactiva reversiblemente con concentraciones elevadas de cloruro de sodio, se conserva en esta forma. Al disminuir la concentración salina al utilizarla, se reactiva, (Bello, A. 2009).

4. Aplicaciones de la rennina

La rennina básicamente se usa en la fabricación de quesos pero existen varios tipos de obtenciones de rennina las cuales son usadas para diferentes obtenciones queseras como:

Los cuajos de origen vegetal se han estado obteniendo a partir de infusiones de flores tales como *Cynara cardunculus* o *Gallium verum*. Estos cuajos son incapaces de competir industrialmente por lo que se han quedado relegados a la obtención de quesos tradicionales y su uso ha sido reducido a áreas geográficas determinadas. Los cuajos microbianos se obtienen fundamentalmente a partir de los sobrenadantes de cultivos de microorganismos como *Endothia*, (Bello, A. 2009).

Estos cuajos contienen proteasas poco específicas que provocan sabores amargos y una disminución en el rendimiento durante el proceso de elaboración de masas queseras. Los cuajos recombinantes comercializados se han obtenido, hasta el momento, a partir de microorganismos recombinantes que contienen el gen de la quimosina de *Bos Taurus*. Esta quimosina recombinante se comporta de la misma manera que la obtenida a partir del prensado directo de cuajares con la ventaja de que su uso evita ahora la aparición de impurezas o de agentes infecciosos, usado comúnmente para elaboración de quesos frescos. Este tipo de quimosinas recombinantes deben ser activadas mediante un proceso de autocatálisis mediado por una simulación del pH ácido del estómago del animal. Solo entonces podrían ser empleadas para la elaboración de queso, (Bello, A. 2009).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en la Panamericana Sur Km 1½ del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. A una altitud de 2850 m. s. n. m. con una latitud de 01° 38' 51" Sur y 78° 40' 59" de longitud al Oeste. La misma que tuvo una duración de 90 días.

En el cuadro 3, se detallan las condiciones meteorológicas de la zona de influencia donde se realizó la investigación.

Cuadro 3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA

Parámetros	Valores
Temperatura promedio, °C	13.50
Humedad relativa, %	60.50
Precipitación, mm/año	360.0

Fuente: Estación Agro meteorológica de la Facultad de Recursos Naturales, ESPOCH (2017).

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

Para la extracción del colágeno se utilizaron 15 unidades experimentales, distribuidos en tres tratamientos con cinco repeticiones, siendo el tamaño de la unidad experimental de 30 g cada una de ellas.

Además se tomaron muestras de 12 g de cada repetición para los respectivos análisis bromatológicos, físico-químicos y organolépticos. Donde se evaluaron las características organolépticas de los colágenos obtenidos.

C. MATERIALES, INSUMOS EQUIPOS E INSTALACIONES

1. En la elaboración de harina de escama de pescado

a. Equipos

- Congelador
- Báscula
- Estufa
- Molino para harinas

b. Materiales

- Recipientes plásticos
- Fundas de basura
- Papel Aluminio
- Mandil
- Mascarilla

c. Materia Prima

- Escamas de pescado

2. En la extracción del colágeno de las escamas

a. Equipos

- Balanza analítica
- Daysi II
- Congelador
- Liofilizador Ilzhim
- Selladora de fundas
- pH metro

b. Materiales

- Fundas de biodigestibilidad
- Espátulas
- Balones aforados de 1000 ml
- Pipetas
- Peras de succión
- Vasos de precipitación
- Papel aluminio
- Varilla de agitación
- Plástico adherente
- Tijeras
- Botellas plásticas de 800 ml
- Fundas plásticas
- Agua destilada
- Caja de cartón

c. Materia Prima

- Harina de escama de pescado

d. Reactivos

- Hidróxido de Sodio 3%
- Ácido Acético 3%
- Rennina CHY - MAX

3. Para la limpieza

- Desinfectante
- Atomizador
- Alcohol

- Escoba
- Lava vajilla

4. De oficina

- Rótulos
- Libreta de apuntes
- Calculadora
- Etiquetas adhesivas
- Esferos de colores
- Computadora
- Tijeras
- Cámara fotográfica
- Marcador permanente

5. Instalaciones

- Laboratorio de nutrición animal y bromatología de la FCP.

D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En la obtención de colágeno de las escamas de pescado se utilizaron diferentes niveles de rennina (5, 10 y 15%), por lo que se contó con tres tratamientos experimentales y cada uno de ellos con cinco repeticiones. Las unidades experimentales se distribuyeron bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) y que para su respectivo análisis se ajustó al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Valor del parámetro en determinación.

μ = Media general.

T_i = Efecto de los niveles de rennina

ϵ_{ij} = Efecto del error experimental.

En el Cuadro 4, se presenta el esquema del experimento empleado

Cuadro 4. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.

Niveles de Rennina	Código	Repeticiones	T.U.E.*	Total /Tratamiento
5 %	T1	5	30 g	150 g
10 %	T2	5	30 g	150 g
15 %	T3	5	30 g	150 g
Total g de harina de escama				450 g

T. U. E. = Tamaño de la Unidad Experimental.

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las mediciones experimentales consideradas dentro del proceso investigativo fueron las siguientes:

1. Variables físicas

- pH,
- Conductividad, %

2. Variables químicas

- Humedad, %
- Materia seca, %
- Proteína, %
- Ceniza, %

2. Valoración organoléptica

- Color 5, puntos
- Olor 5, puntos
- Apariencia 5, puntos

3. Análisis económico

- Rendimiento escama-colágeno,
- Costo de producción
- Beneficio/costo

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Los resultados experimentales se sometieron a las siguientes pruebas estadísticas.

- Análisis de varianza (ADEVA), para las diferencias en las variables del análisis físico químico.
- Separación de medias de acuerdo a la prueba de Tukey, al nivel de significancia de $P < 0.05$.
- Para la valorización de las características organolépticas, se utilizó la prueba de Rating Test.
- Determinación de las líneas de tendencia mediante el análisis de regresión ortogonal en las variables que presenten diferencias estadísticas.

1. El esquema del análisis de varianza (ADEVA)

El esquema de análisis de varianza (ADEVA), que se utilizó para el desarrollo de la presente investigación se reporta en el siguiente, (Cuadro 5).

Cuadro 5. ESQUEMA DEL ADEVA.

Fuentes de variación	Grados de libertad
Total	14
Tratamientos	2
Error	12

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Programa sanitario

Limpieza y desinfección de las instalaciones, materiales y equipos a emplearse en todo el proceso, para el lavado se realizó con detergente comercial y la desinfección con la solución de hipoclorito de sodio con el fin de prevenir la presencia de algún agente patógeno en ambas instalaciones, en el Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH.

2. Obtención de la harina de escama de pescado.

Para la elaboración de la harina de escama de pescado se realizó los siguientes pasos:

- **Recolección de la materia prima:** Se recolectó las escamas de pescado en recipientes de plástico para su posterior limpieza.
- **Lavado y desinfección:** Se dio la limpieza pertinente de las escamas, las cuales se sumergieron y fueron lavadas con agua purificada.

- **Escurrimiento y pesaje:** Las escamas se colocaron en cernidores plásticos por 30 minutos, para posteriormente determinar su peso.

- **Secado:** Se lo realizó ubicando las escamas en papel aluminio para posteriormente proceder a colocar en la estufa a una temperatura de 60°C durante 48 horas.

- **Trituración:** Luego de haber desecado las escamas se procedió a molerlos, obteniendo así la harina.

- **Empaque:** La harina se colocó en fundas hasta su utilización.

3. **Extracción de colágeno de la harina de escama**

Para la extracción de colágeno a partir de harina de escama empleando diferentes niveles de rennina se basó en el diagrama de flujo que se presenta en el gráfico 3, cuya descripción del procedimiento es el siguiente:

- Recepción de materias primas y aditivos: En esta fase se verificó que la materia prima esté adecuadamente homogenizada. Se receptó los aditivos que se emplearon para el proceso.
- Enfundado y pesaje: Se pesó 15 muestras de harina de escama cada una de 30 gramos en bolsas de digestibilidad previamente codificadas para evitar posteriores confusiones.
- Lavado: Se preparó una dilución de hidróxido de sodio concentrado al 3%. Por consiguiente se colocó una bolsa con 500 ml de la dilución por compartimento dentro del equipo Daysi II este procedimiento fue llevado a cabo por 3 horas.
- Enjuagado: Para este paso se lavó cada una de las bolsas de los compartimentos del equipo con agua destilada hasta que la medida del pH tomada del agua de lavado nos de igual medida que el agua destilada. Con la finalidad de eliminar todos los residuos de Hidróxido de Sodio.
- Disolución ácida: Consistió en la preparación de una dilución de ácido acético concentrado al 3%. Posterior a esto se colocó una bolsa y 500 ml de la dilución por cada uno de los compartimentos de Equipo Daysi II.
- Reacción Enzimática: Se añadió la enzima rennina a cada una de las bolsas junto con la dilución ácida y se dejó actuar durante 24 horas donde la enzima comercial CHY-MAX se incubará a una temperatura de 38 °C.
- Hidrolizado y almacenado: Se obtuvo un hidrolizado en ácido acético de

colágeno donde las muestras se almacenaron en botellas plásticas de 800 ml dentro de un congelador a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- Liofilizado: Posteriormente se congelaron las muestras en los frascos del equipo Ilzhin para ser colocados en el equipo durante 24 horas
- Almacenado: Una vez liofilizadas las muestras de colágeno se procedió a almacenarlas dentro de fundas para evitar la pérdida del mismo, conservado posteriormente a una temperatura ambiente.

a. Diagrama de flujo

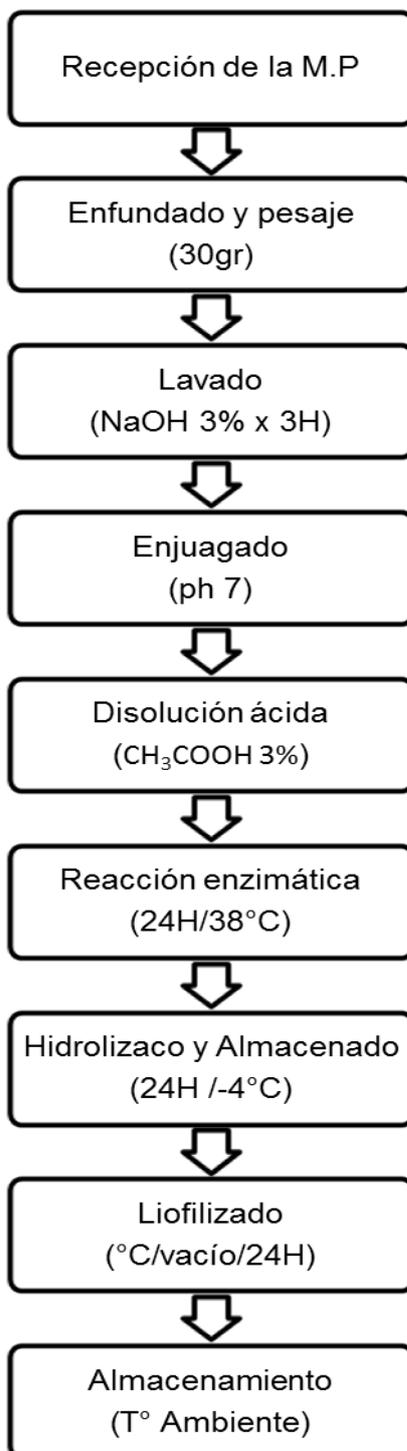


Gráfico 2. Diagrama del proceso de extracción de colágeno de las escamas de pescado usando diferentes niveles de rennina.

A continuación (Cuadro 6), se señalan las fórmulas que se aplicó para la presente investigación.

Cuadro 6. FORMULACIÓN PARA LA EXTRACCIÓN DE COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA PARA CADA TRATAMIENTO (450 G ESCAMA).

	T1	T2	T3
	%	%	%
Materias Primas			
Escama de Pescado	150 g	150 g	150 g
Rennina	125 ml	250 ml	375 ml
Agua destilada	2500 ml	2500 ml	2500 ml
Hidróxido de Sodio	125 g	125 g	125 g
Ácido Acético	300 ml	300 ml	300 ml

H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN

En el presente trabajo investigativo se realizó los análisis de laboratorio con la finalidad de conocer la valoración bromatológica y la valoración organoléptica de cada uno de los tratamientos obtenidos con la intención de identificar los mejores resultados.

1. Valoración física

Para determinar el pH y la conductividad del colágeno, se tomaron 2 g de muestra y se realizaron las pruebas con el pH metro para cada tratamiento en el Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias y Laboratorio de Instrumental de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH. En base a los resultados reportados se procedió a realizar los análisis estadísticos y la interpretación de los resultados. De acuerdo a lo citado por NTE INEN 10523 (2014), para medición de pH

2. Valoración química

Para los análisis químicos de del colágeno se tomaron muestras de 2 g por tratamiento y se analizaron en el Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, para determinar: humedad (%), proteína (%), materia seca (%) y cenizas (%). En base a los resultados reportados se realizaron los análisis estadísticos y la interpretación de estos resultados.

3. Valoración organoléptica

Para la obtención de los resultados organolépticos, se seleccionó el panel de catadores, los mismos que calificaron las muestras de colágeno bajo los siguientes parámetros propuestos:

- Color 5 puntos.
- Olor 5 puntos.
- Apariencia 5 puntos.
- Total 20 puntos.

Para las evaluaciones sensoriales los degustadores cumplieron las siguientes condiciones:

- Selección de 20 panelistas pertenecientes a la cátedra de análisis sensorial
- No haber comido ni ingerido bebidas alcohólicas previas a la evaluación.
- Individualidad entre cada uno de los panelistas mediante cubículos únicos.

Provisiones proporcionadas a los degustadores por el juez, antes de la evaluación:

- Para cada panelista, el cubículo fue provisto de un vaso con café, con el fin de evitar la mezcla de olores entre las muestras.

- Se presentó a cada panelista las 3 muestras de colágeno en polvo por separado, un esfero gráfico y la hoja de evaluación, (Anexo 1), donde se pidió valorar las diferentes muestras en una escala numérica, de acuerdo a la escala pre definido. Se repitió en cada sesión y una vez obtenidos los resultados se procedió a los análisis estadísticos de acuerdo a la prueba de Rating Test.

A continuación en el Cuadro 7, se determina los parámetros de calificación para los atributos sensoriales del colágeno de las escamas de pescado.

Cuadro 7. PARÁMETROS DE CALIFICACIÓN PARA LOS ATRIBUTOS SENSORIALES DEL COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA.

Descripción	Valoración
Excelente	5
Muy bueno	4
Bueno	3
Regular	2
Malo	1

4. Análisis económico

La variable se la evaluó mediante el costo de producción e indicador beneficio/costo. El costo de producción se determinó sumando todos los gastos en la extracción de colágeno y dividirla para la cantidad total obtenida en cada uno de los tratamientos. El beneficio/costo, se estableció dividiendo los ingresos totales para los egresos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO DEL COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO NIVELES DE RENNINA.

Los resultados del análisis bromatológico del colágeno se reporta en el Cuadro 8, que se analiza a continuación.

Cuadro 8. COMPOSICIÓN PROXIMAL DEL COLÁGENO USANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA.

Variables	Niveles rennina, %			E.E.	Prob.	Sig.
	0,5%	0,10%	0,15%			
Humedad %	8.51 a	8.03 a	8.14 a	0.3535	0.6249	ns
Materia Seca %	91.49 a	91.97 a	91.86 a	0.3535	0.6249	ns
Proteína%	38.95 a	39.72 a	39.29 a	0.2855	0.4076	ns
Cenizas%	51.84 a	51.97 a	52.50 a	0.2741	0.3756	ns
pH	5.24 a	5.26 a	5.21 a	0.3578	0.6402	ns
Conductividad	44.76 a	53.58 b	62.80 c	1.18E-06	6.95E-12	**

E.E.: Error Estándar.

Prob. >0,05: No existen diferencias estadísticas. (ns)

Prob. <0,05: Existen diferencias estadísticas. (*)

Prob. <0,01: Existen diferencias altamente significativas. (**)

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey.

1. Contenido de humedad (%)

Los contenidos de humedad no variaron estadísticamente ($P < 0.05$), por efecto de los niveles de rennina empleados, aunque numéricamente existen pequeñas variaciones por cuanto estos fluctuaron entre 8.03 % de humedad en el colágeno obtenido con el 10 % de rennina a 8.51 % de humedad con el empleo de 5 % de la enzima, en tanto que los otros grupos presentan valores entre los anotados (Gráfico 3), por lo que se establece que la utilización de esta enzima en la extracción del colágeno no favorece a la retención de humedad.

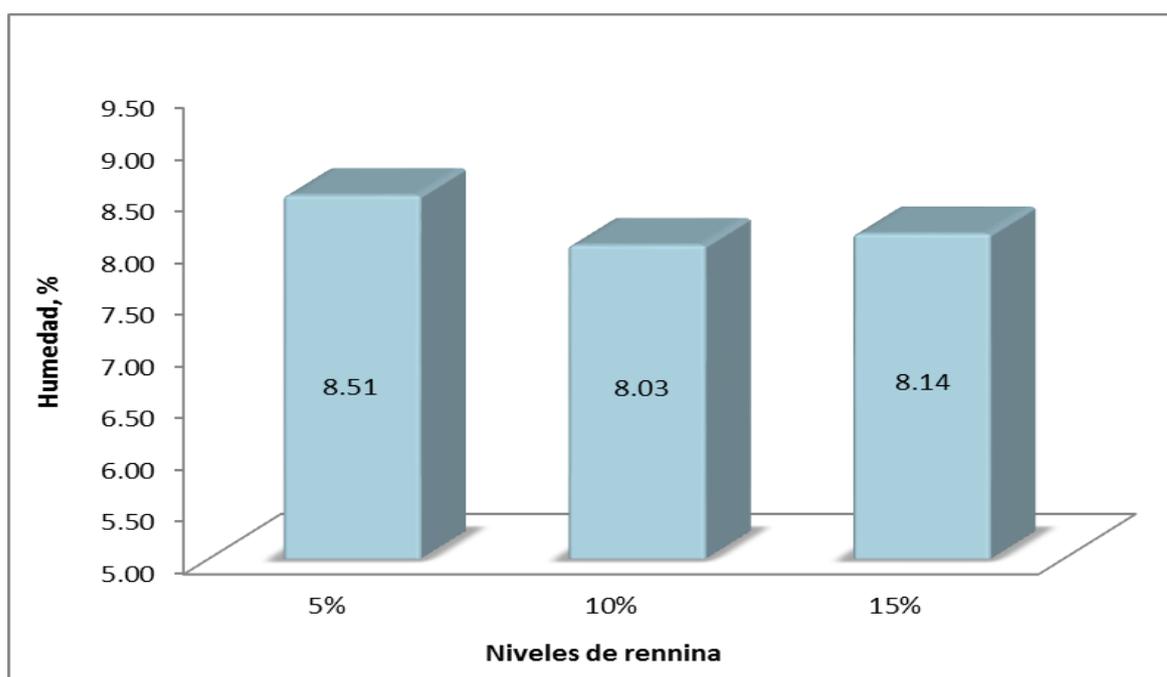


Gráfico 3. Contenido de humedad del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.

Los contenidos de humedad del colágeno encontrados al haberse obtenido mediante liofilización confirma lo reportados por Holdsworth, S. (1998), quien señala que para mantener las características nutricionales de productos liofilizado se realiza este proceso hasta estandarizar su contenido de humedad en el 15 %, razón por la cual se justifica los valores reportados en esta investigación, mejorando así la estabilidad de las muestras debido a su bajo nivel de humedad, al igual que Ramírez, C et (2016), quien en su investigación de cuantificación de proteína total de escamas de tilapia y pargo determina los valores de humedad del 12.5 %.

2. Contenido de materia seca (%)

Los contenidos de materia seca del colágeno de escamas de pescado numéricamente variaron entre 91.49 y 91.97 % de materia seca y que corresponden al colágeno con el empleo de 5 y 10 % de rennina (Gráfico 4), por lo que estadísticamente se consideran iguales ($P < 0.05$), y que establece que el uso de esta de enzima no influye en el contenido de materia seca siendo el proceso de liofilización el que mantiene constante el contenido de la misma, por

cuanto Pérez, Z. y García, M. (2009), indican que en la extracción del colágeno, la materia seca permanece constante, por el proceso posiblemente de deshidratación mediante la liofilización

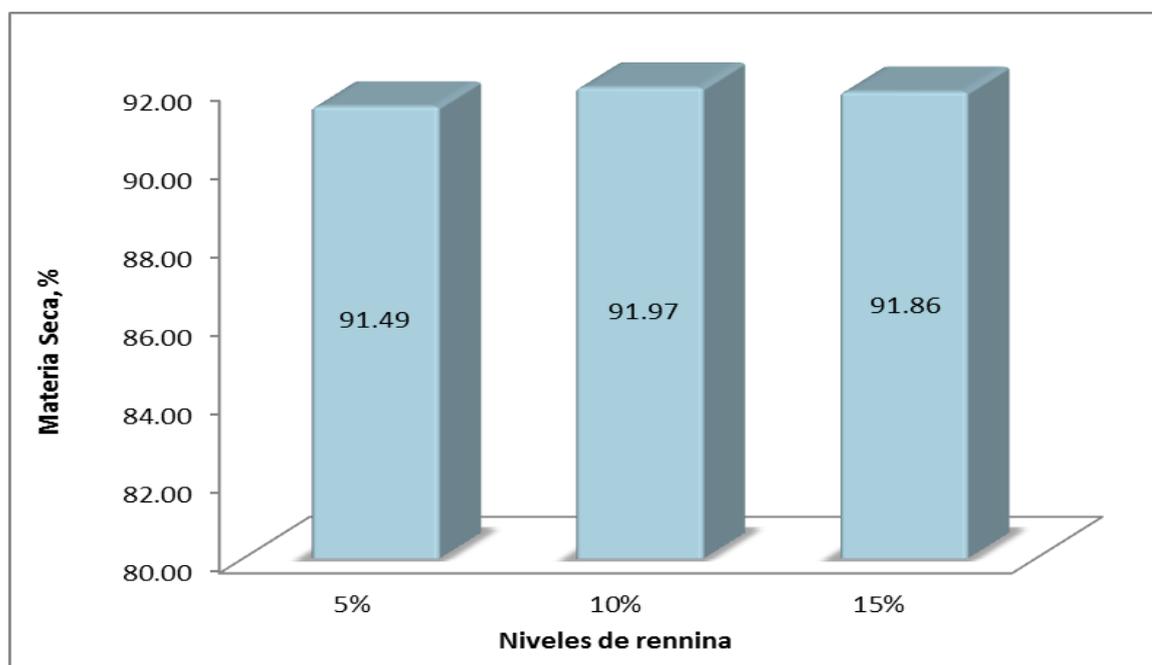


Gráfico 4. Contenido de materia seca del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.

Las respuestas encontradas del contenido de materia seca (91.49 a 91.97 %), guardan relación con los reportados por Sánchez, A., Arias J., Torres, W. et al. (2014), quien al extraer colágeno a partir de subproductos (pieles, escamas y huesos) de tilapia roja, posee un 93.03 % de materia seca; además puede indicarse que el colágeno extraído de las escamas de pescado presentan ser superiores a otras extracciones de especies acuáticas, por cuanto Quintero, J. y Zapata, J. (2016), obtuvieron un 89,17 % correspondiente materia seca.

3. Contenido de Proteína (%)

Los contenidos de proteína encontrados en el colágeno de las escamas de pescado no fueron diferentes estadísticamente ($P < 0.05$) por efecto de los niveles de rennina utilizados para su extracción por cuanto los valores determinados fueron de 38,95, 39,72 y 39,29 % que corresponden al empleo de niveles de 5,

10 y 15 % de rennina respectivamente (Gráfico 5), por lo que estos resultados guardan relación con el reporte de Wang, Y., & Regenstein, J. (2009), que indica que el colágeno contiene entre 31 y 54 % de proteínas; pero son inferiores con los reportados por Ramírez, C. et (2016), quien al cuantificar el contenido de proteína total de escamas de tilapia y pargo registró el 49,7 % además de que señala que el contenido de nutrientes de las escamas depende de varios factores como: la especie del pez, la estación del año, la zona en la que hayan sido capturados, la región de cultivo, así como también de los alimentos que hayan consumido durante su vida.

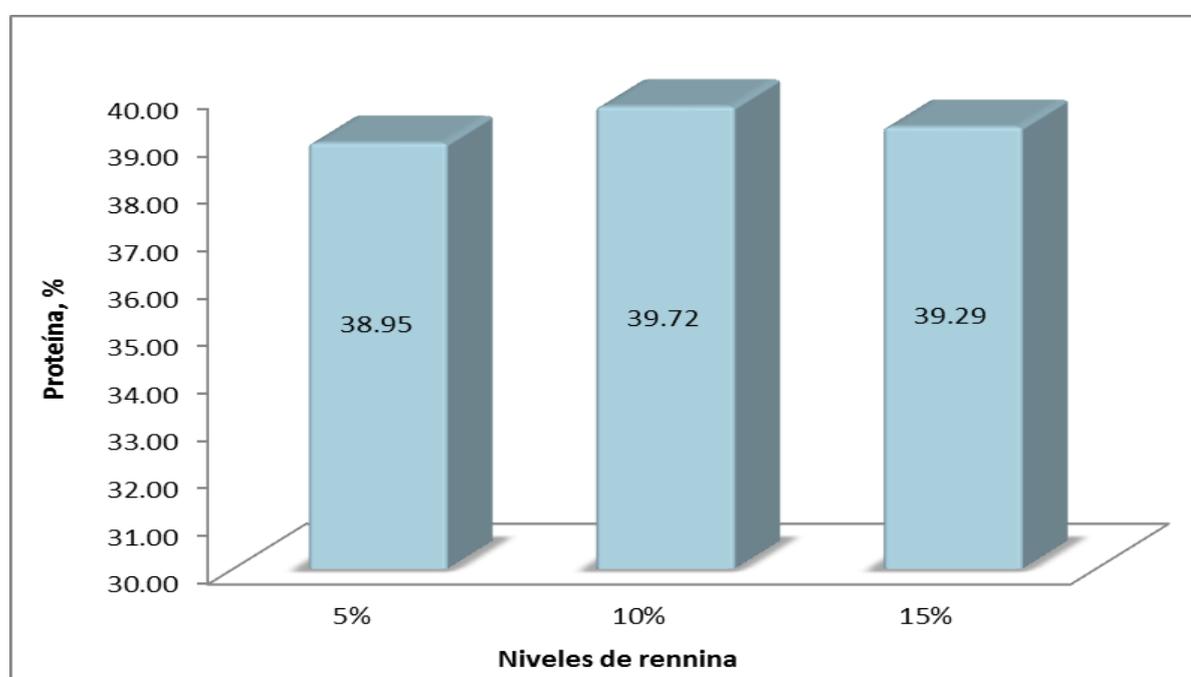


Gráfico 5. Contenido de proteína del colágeno extraído de las escamas de pecado con diferentes niveles de rennina.

No obstante, los datos del presente estudio son superiores al señalado por Cedeño, I. Y Morales, V. (2015), quien al obtener el colágeno de escamas de pargo amarillo (*Lutjanus novemfasciatus*), encontró un contenido del 25 %. Considerándose por tanto que las diferencias entre los estudios citados con el presente pueden deberse a las técnicas de extracción utilizadas.

4. Contenido de cenizas (%)

Los contenidos de ceniza de colágeno de las escamas de pescado numéricamente variaron entre 51.84 a 52.50 % que corresponden al uso de 5, 10 y 15 % de rennina (Gráfico 6), variaciones que estadísticamente no son significativas ($P < 0.05$), por lo que se consideran similares y que permiten afirmar que el empleo de la enzima no influyó en el contenido de cenizas, ratificándose por lo tanto lo señalado por Ramírez, C. et (2016), quien al realizar la cuantificación de proteína y cenizas de escamas de tilapia y pargo determinó que la fracción inorgánica del colágeno es de 50.3 %, pudiendo además indicarse que los contenidos de cenizas encontrados guardan relación con el trabajo realizado por Snyder, D. y Nilson, H. (2011), al obtener colágeno de las escamas de abadejo de Alaska registró que este contenía el 50,9 % de cenizas.

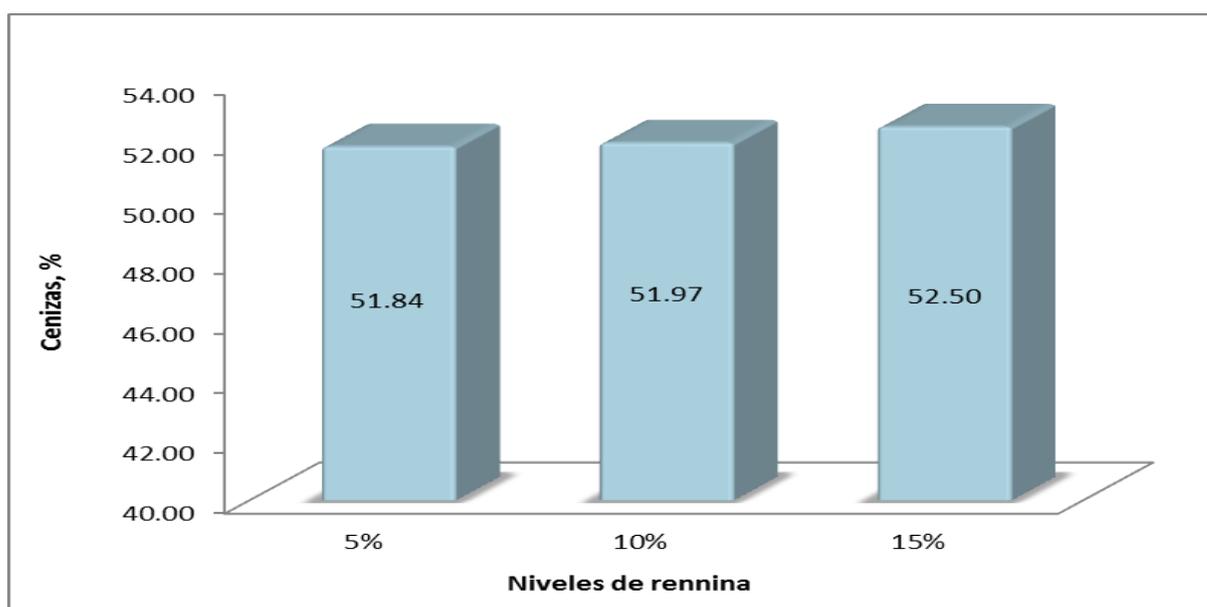


Gráfico 6. Contenido de Cenizas del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.

5. pH

El pH de el colágeno extraído de las escamas de pescado, no varió estadísticamente ($P < 0.05$), por efecto de los niveles de rennina utilizados, por cuanto en tos variaron entre 5.25 y 5.26 y que corresponden al empleo del 10 y 5

%, (Gráfico 7), de rennina, por lo que se establece que el colágeno extraído es ligeramente ácido, además por no haber resistido diferencias estadísticas se considera que las variaciones encontradas puede deberse al método de extracción utilizado en la investigación, por cuanto Ramírez, C et (2016), indica que el nivel de pH del colágeno obtenido de tilapia y pargo fue de 3.12. Tomando en consideración los requisitos exigidos en la Norma Técnica Colombiana 3750 (2002), donde se indica que el pH del colágeno debe presentar un valor máximo de 6.0, por consiguiente los resultados obtenidos en el presente trabajo se aproximan a esta referencia.

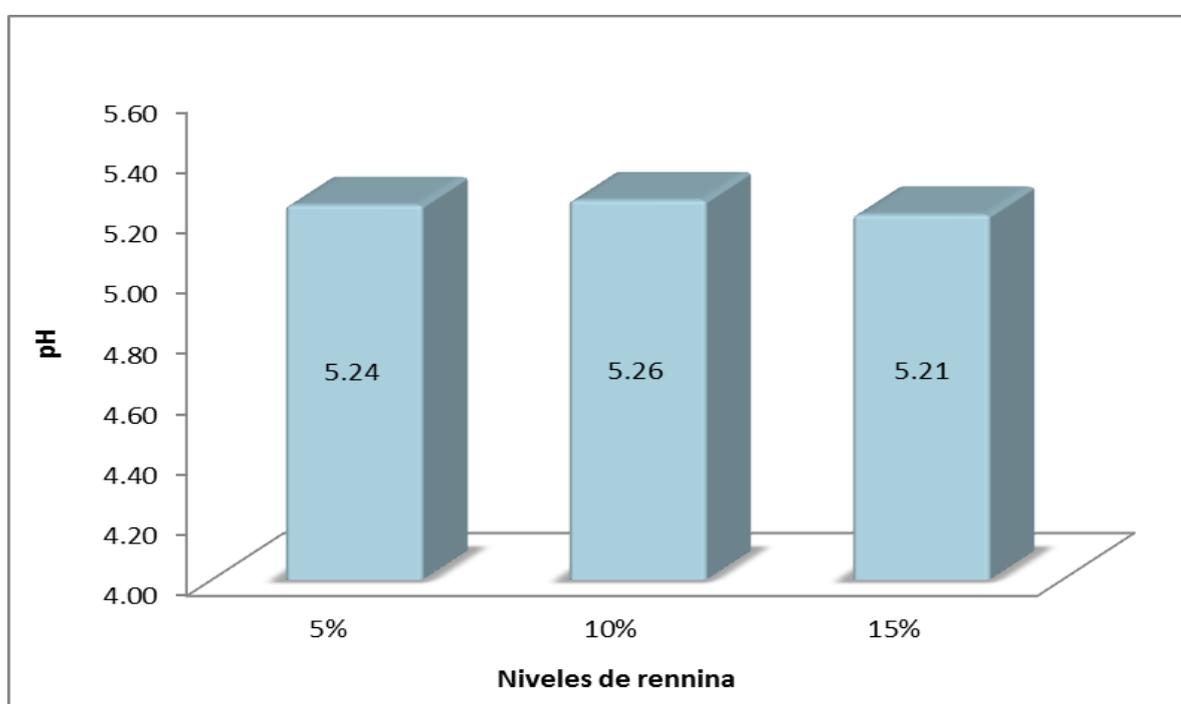


Gráfico 7. pH del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.

6. Conductividad

En cuanto a la variable conductividad se pudo evidenciar que se registró diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), por efecto de los diferentes niveles de rennina empleados, alcanzándose la respuesta más alta ($64,1 \mu\text{S}/\text{cm}$) al emplear el 15% de la enzima, en tanto que el resultado más bajo se registró con el 5% de rennina que corresponde a $43,4 \mu\text{S}/\text{cm}$. Por lo que mediante el análisis de regresión se estableció una tendencia lineal significativa, que establece que

a medida que se incrementa los niveles de rennina, la conductividad del colágeno se incrementa en 1.80 unidades, como se observa en el Gráfico 8. Los valores registrados 5, 10 y 15% son inferiores con los descritos por Sánchez, J., Navarro, C. et (2008), quienes describen que el hidrolizado de colágeno debe alcanzar una conductividad no superior a 500 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

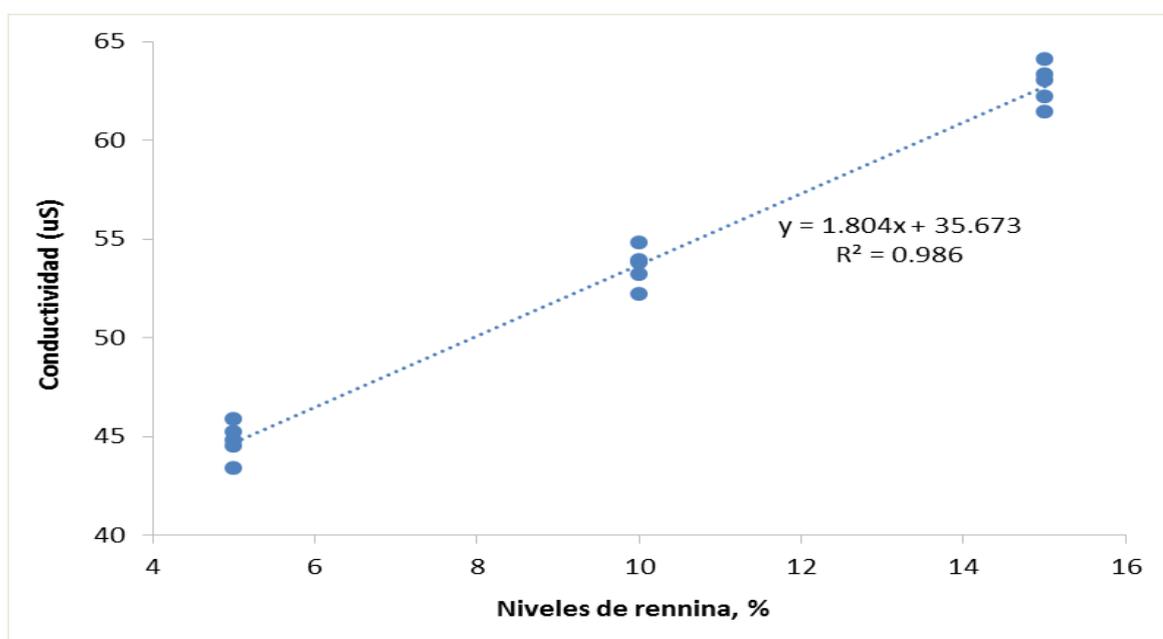


Gráfico 8. Conductividad del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.

B. ANÁLISIS SENSORIAL DEL COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA.

La calidad sensorial de un alimento es el conjunto de sensaciones experimentadas por una persona cuando evalúa dicho alimento, relacionándose con las características del producto tales como su aspecto, color, olor, sabor y textura. Estos atributos influyen en la decisión del consumidor ya que tienen un rol fundamental en la aceptabilidad, existen productos ricos en nutrientes que no se aceptan como alimentos por no satisfacer los requerimientos sensoriales de los consumidores según lo señalan Carduza, F. et al. (2000). Los resultados en cuanto al análisis sensorial del colágeno se presentan en el (cuadro 9).

Cuadro 9. VALORACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL COLÁGENO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO UTILIZANDO DIFERENTES NIVELES DE RENNINA.

Variables	Niveles de rennina, %			E.E	Prob.	Sig.
	5%	10%	15%			
Color, 5 puntos	4.50 A	4.25 a	4.33 a	0.3026	0.2360	ns
Olor, 5 puntos	3.75 A	3.92 a	3.92 a	0.3333	0.1111	ns
Apariencia, 5 puntos	4.25 A	4.00 a	4.08 a	0.3586	0.1680	ns
TOTAL	12.50 A	12.17 a	12.33 a	0.9162	0.0441	ns

E.E.: Error Estándar.

Prob. >0,05: No existen diferencias estadísticas.

Prob. <0,05: Existen diferencias estadísticas.

Prob. <0,01: Existen diferencias altamente significativas.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey.

1. Olor, 5 puntos

En la apreciación del olor del colágeno de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina, Las calificaciones que se les asignaron no fueron diferentes estadísticamente ($P < 0.05$), aunque numéricamente tuvieron una mayor preferencia por el colágeno con el 10 y 15 % de rennina, por que recibió una calificación de 3.92 puntos sobre 5 de referencia; en cambio el que recibió la valoración más baja fue el colágeno con el 5 % de enzima ya que le asignaron 3.75 puntos (Gráfico 9)

Sin embargo estadísticamente son iguales, y que se confirma lo indicado por Beltrán, J., (2011), quien señala en su investigación que obtuvo un colágeno con un olor propio ligeramente ácido no desagradable debido al uso de ácido acético del 1% en su extracción, guardando relación con los resultados obtenidos en esta investigación.

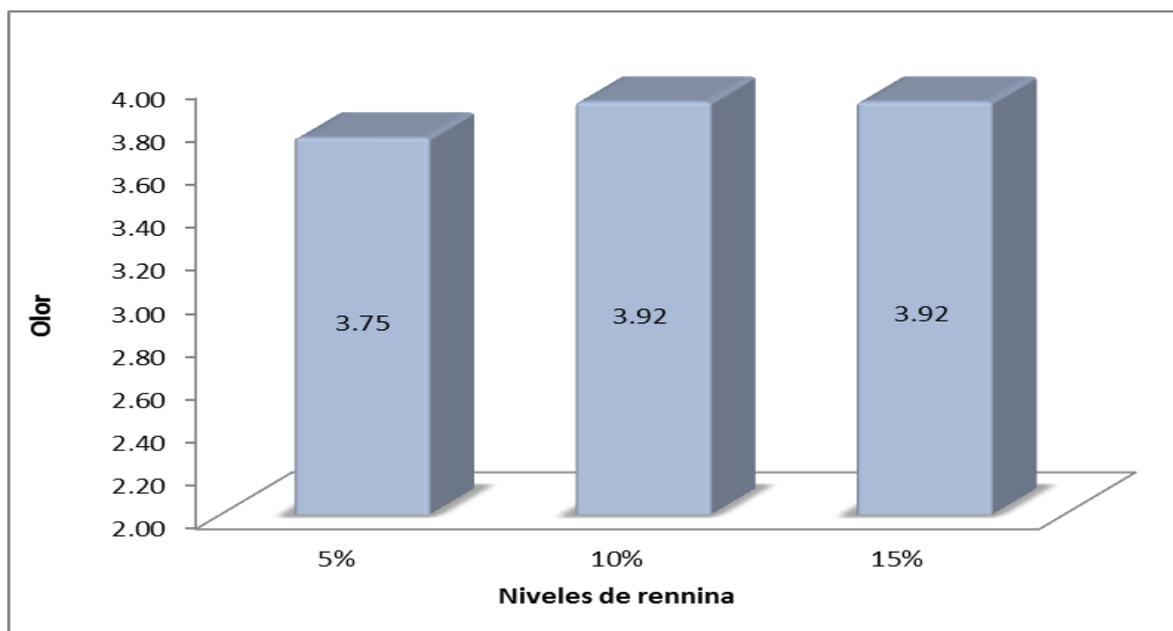


Gráfico 9. Olor del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.

2. Color, 5 puntos

Las respuestas de la valoración del color de las muestras de colágeno no presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$), por efecto de los niveles de rennina utilizados, por cuanto las calificaciones asignadas fueron entre 4.25 y 4.50 puntos sobre 5 de referencia y que corresponden a el colágeno obtenido con el 5 y 10 % de enzima, respectivamente (Cuadro 9, Gráfico 10), por cuanto todas las muestras presentaron una coloración blanca uniforme, sin que se altere este por la adición de rennina, si no que el color de este producto puede deberse por el contenido de calcio que estas posean como lo describe Gómez, J. y Benítez, M. (2011), que indica que la escama en estado crudo contiene el 40% de calcio por tal razón los tres tratamientos tienden una coloración blanquecina, ratificándolo con lo obtenido por Beltrán, J., (2011), donde obtuvo un colágeno a partir de piel de tilapia, de un color blanco sin ningún tipo de impureza, resultados que se ajustan a lo exigido por la Norma Técnica Colombiana 3750, (2002).

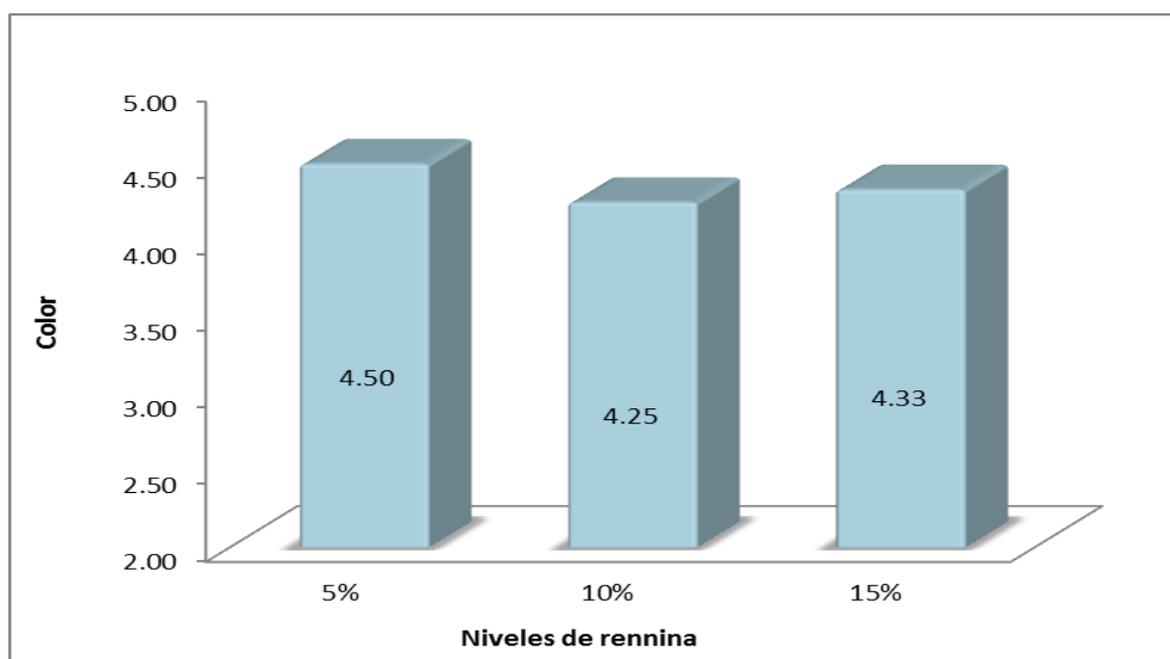


Gráfico 10. Color del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.

3. Apariencia, 5 puntos

Los resultados de la valoración de la apariencia del colágeno de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina no presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$), por cuanto en la apariencia o aspecto, el color jugó un papel importante ya que la muestra con el 5% de rennina presentó un color más blanco a diferencia de las muestras con el 10 y 15 % de enzima, característica que se observó en las muestras de colágeno evaluada, donde los panelistas asignaron ligeramente una calificación superior a las muestra con el 5 % de enzima (4.25 puntos/sobre), en tanto que por el efecto del 10 y 15 % de rennina variaron entre 4.00 y 4.08 puntos, como se observa en el Gráfico 11.

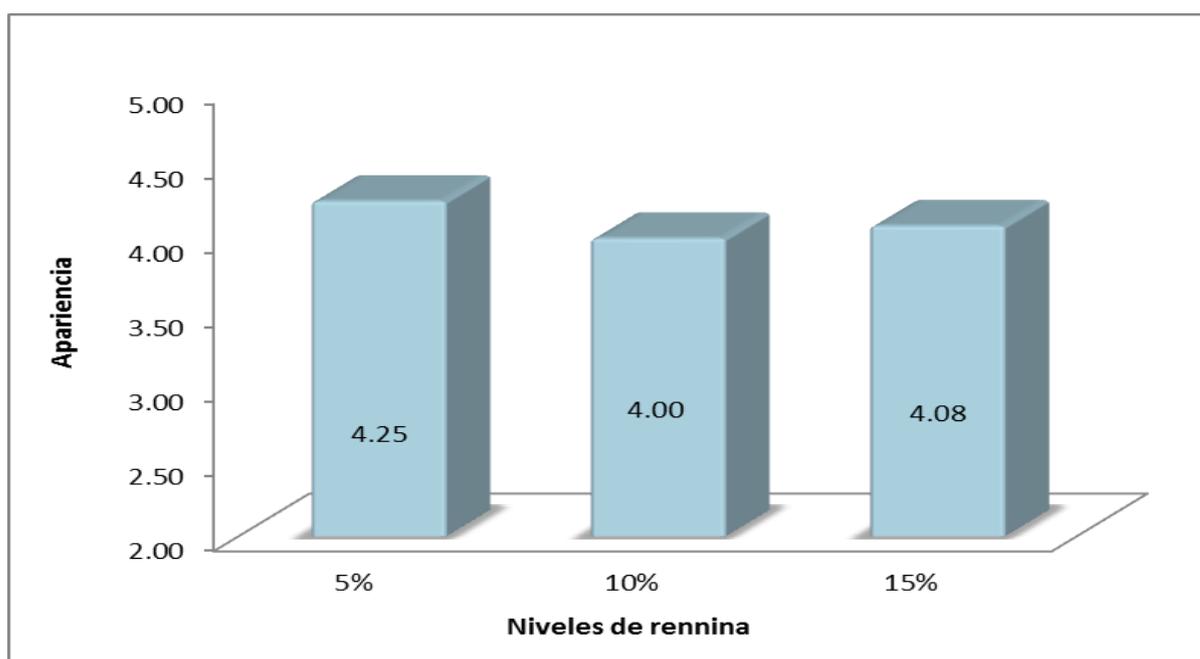


Gráfico 11. Apariencia del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.

4. Características organolépticas totales, 15 Puntos

La valoración total de las características organolépticas, de el colágeno de las escamas de pescado no se estableció diferencias estadísticas ($P < 0.05$), entre los niveles por efecto del uso de rennina, distinguiéndose superioridad numérica en el 5 % de enzima con un valor de 12.50 sobre 15 puntos, seguido por el nivel del 15 y 10 % que alcanzó 12,33 y 12,17 respectivamente, obteniendo una calificación de bueno para los tres niveles. Es decir que los resultados reportados por los panelistas fueron calificados como aceptables como se presenta en el Gráfico 12.

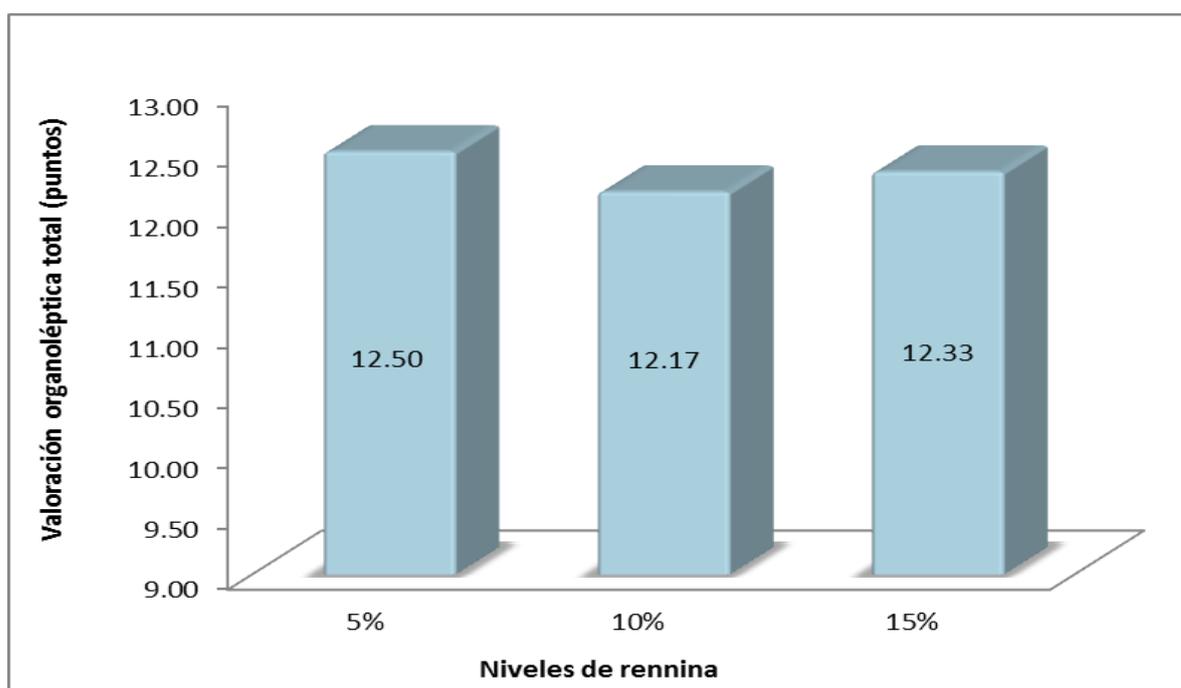


Gráfico 12. Valoración organoléptica total (sobre 15 puntos), del colágeno extraído de las escamas de pescado con diferentes niveles de rennina.

C. ANÁLISIS ECONÓMICO

1. Costo de producción

Al realizar el análisis económico tomando en consideración los gastos efectuados, se estableció que los costos de producción tienden a reducirse cuando se utiliza los diferentes niveles de rennina, ya que al producir 115 g de colágeno el costo fue de 0.24 USD (Cuadro 10), es decir que en un kilogramo de colágeno el costo de producción será de 2.09 dólares para el nivel del 15 % y un mayor costo de producción para el tratamiento del 5 % que fue de 4.85 dólares por kilogramo. Económicamente representa un ahorro de 2.76 dólares por cada Kg de colágeno producido entre el 5 % frente al empleo del nivel 15 % de rennina. Resultado que se debe a que la harina se obtuvo en base a escama de pescado el cual es considerado como un residuo de la industria pesquera.

Cuadro 10. EVALUACIÓN DEL BENEFICIO/COSTO DEL COLÁGENO EXTRAÍDO DE LAS ESCAMAS DE PESCADO CON DISTINTOS NIVELES DE RENNINA

Concepto	Unidad	Costo unitario	Niveles de rennina		
			5%	10%	15%
Escamas	gramos	1.35	0.45	0.45	0.45
Rennina	mililitros	20.26	3.38	6.75	10.13
Agua	mililitros	0.93	0.31	0.31	0.31
Hidróxido de sodio	gramos	41.25	13.75	13.75	13.75
Ácido acético	mililitros	5.40	1.80	1.80	1.80
Mano de obra		4.50	1.50	1.50	1.50
EGRESOS TOTALES			21.19	24.56	27.94
Peso final, g			65.58	86.98	114.54
Rendimiento, %			43.72	57.99	76.36
Costo producción./g, dólares			0.32	0.28	0.24
Precio de venta, dólares/g			0.09	0.09	0.09
INGRESOS TOTALES			22.95	30.44	40.09
BENEFICIO/COSTO			1.08	1.24	1.43

2. Rendimiento Escama/Colágeno

Para obtener colágeno de las escamas de pescado utilizando diferentes niveles de rennina, se usó 30 gramos en cada uno de los niveles, una vez obtenido el colágeno se liofilizó y se obtuvo un rendimiento del 44 % correspondiente al 5 % de rennina utilizada en la extracción así como también el 58 % para el 10 %, determinando que el mejor rendimiento se obtuvo con el uso del 15 % de rennina, 76%, respectivamente, resultados que son justificados por que la enzima actuó como acelerador en la reacción de obtención facilitando una mayor cantidad de colágeno a medida que aumenta los niveles de rennina.

3. Beneficio/Costo

En el Cuadro 10, se reporta que el análisis del beneficio/costo (B/C), estableciendo que al usar el 15 % de rennina en la extracción de colágeno de las escamas de pescado se alcanzó un beneficio costo de 1.43 representando que

por cada dólar invertido se obtuvo una utilidad de 43 centavos de dólar, mientras que en el tratamiento con el 5 % de enzima se obtuvo un B/C de 1.08 obteniendo una utilidad de 8 centavos por cada dólar invertido, por tanto económicamente resulta más rentable extraer colágeno de las escamas de pescado con el empleo del 15 % de rennina, ya que además de presentar menores costos de producción con la adición de la enzima, su contenido proteico no se ve afectado; por otra parte, la rentabilidad económica en todos los casos son atractivos, considerándose a este tipo de actividad industrial bastante rentable, favoreciendo también al medio ambiente al utilizar un subproducto que en la actualidad no es aprovechado siendo desechado de maneras no apropiadas, causando contaminación al medio ambiente.

V. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se pueden expresar del presente trabajo de investigación en base a los resultados obtenidos son las siguientes:

- El empleo de diferentes niveles de rennina para la extracción del colágeno de escamas de pescado, no influyó en la composición bromatológica en cuanto al contenido de humedad, materia seca, proteína, cenizas y pH.
- Al utilizar el 15 % de rennina la conductividad del colágeno fue mayor (62.80 $\mu\text{S}/\text{cm}$), con respecto a los otros niveles utilizados, lo que determina que en este existe una gran cantidad de sales disueltas en la solución.
- En la valoración organoléptica del colágeno extraído con el 5 % de rennina presentó mejor aceptación en cuanto al color y olor alcanzando una puntuación final de 12.50 puntos, aunque estadísticamente es similar al empleo de 10 y 15% de rennina por cuanto las calificaciones asignadas fueron de 12.17 y 12.33, puntos en su orden.
- El menor costo de producción y la mayor rentabilidad económica se obtuvo al utilizar en la extracción del colágeno el 15 % de rennina (0.09 USD/g y B/C de 1.43 respectivamente)

VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se pueden realizar las siguientes recomendaciones:

- Extraer colágeno de escamas de pescado con la utilización del 15 % de rennina, ya que a más de obtener un mayor rendimiento y un beneficio/costo alto también tuvo una buena aceptación por parte de los evaluadores.
- Replicar el estudio incluyendo mayores niveles de rennina hasta establecer el nivel óptimo por cuanto en el presente trabajo no se establecieron diferencias estadísticas en la composición físico - químicas.
- Buscar nuevas fuentes de colágeno de subproductos de origen animal que no están siendo utilizados y permitan su industrialización con fines alimenticios, cosméticos, farmacéuticos etc.

VII. LITERATURA CITADA

- 1 ARREOLA, J. 2012. Determinación de pH y Acidez. Disponible en: <http://carnestercerparcial.blogspot.com/2012/06/determinacion-de-ph-y-acidez.html>
- 2 BELLO, A. 2009. PRODUCCION DE ENZIMAS EN LA INDUSTRIA LACTEA, LACTASA Y RENINA. Disponible en: <http://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/1539/1/2009-04P-08.pdf>
- 3 BENHABLES, M., ABDI, N., DROUCHE, N., LOUNICI, H., PAUSS, A., GOOSEN, M., y MAMERI, N. 2012. Fish protein hydrolysates production from sardine solid waste by crude pepsin enzymatic hydrolysis in a bioreactor coupled to an ultrafiltration unit. Mater Sci Eng, Vol. 32: 922 – 928. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493112000653>
- 4 Beltrán, J. 2011. Valoración de la innovación tecnológica del proceso de obtención de colágeno a partir de piel de tilapia (*Oreochromis sp*) para su aplicación en el mercado cosmético (Trabajo de postgrado). Disponible en: <http://libros.duhnae.com/2017/may2/149486675182-Valoracion-de-la-innovacion-tecnologica-del-proceso-de-obtencion-de-colageno-a-partir-de-piel.php>
- 5 BITAR, M. SALIH, V. BROWN, R. y NAZHAT, S. 2007. Effect of multiple unconfined compression on cellular dense collagen scaffolds for bone tissue engineering. J Mater Sci Mater Med, Vol. 18: 237–244. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17323154>
- 6 CHALAMAIAH, M. DINESH-KUMAR, B. HEMALATHA, R. y JYOTHIRMAYI, T. 2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>
- 7 Hurtado, N. Libardo, V. Herrera, Y. Gómez, D. (2013). Efecto del uso de la

escama de pescado en la alimentación de codornices sobre la calidad del huevo. Colombia. Disponible en : <http://www.unipaz.edu.co/ojs/index.php/revcitecsa/article/view/49>

- 8 COLOMBIA. INSTITUTO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIONES ICONTEC. 2014. Productos para la industria cosmética: Colágeno Soluble NTC 3750. Disponible en: <http://www.libreriadelau.com/ntc-3750-productos-para-la-industria-cosmetica-colageno-soluble-icontec-null-quimica/p>
- 9 FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS FAO. 2014. The state of world fisheries and aquaculture. Opportunities and challenges. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>.
- 10 GELSE, K. PÖSCHL, E. y AIGNER, T. 2003. Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery*, Vol. 55. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/9004464_Collagens-Structure_function_and_biosynthesis
- 11 GÓMEZ, J. y BENÍTEZ, M. J. 2011. Evaluar el posible uso de la escama de cachama (*Piaractus brachypomus*) y tilapia (*Oreochromis s.p.*) como desecho de la producción piscícola en la producción de nutrición animal y como enmienda en suelos de la región (Trabajo de grado). Universidad de los Llanos. Villavicencio.
- 12 GONZÁLEZ, J. RODRÍGUEZ, R. MACHADO, M. GONZÁLEZ, J. y CABRERA, J. 2004. Heridas. *Métodos de Tratamiento*. MEDISAN, Vol. 8:33-42. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029
- 13 GÓMEZ, J. y BENÍTEZ, M. J. 2011. Evaluar el posible uso de la escama de cachama (*Piaractus brachypomus*) y tilapia (*Oreochromis s.p.*) como desecho de la producción piscícola en la producción de nutrición animal

y como enmienda en suelos de la región (Trabajo de pregrado).
Disponible en: <http://repositorio.unillanos.edu.co/handle/001/255>

- 14 HE, S. FRANCO, S. y ZHANG, W. (2013). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). Food Research International, Vol. 43. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912004425?via%3Dihub>
- 15 HOLDSWORTH, S. 1988. Conservación de frutas y hortalizas. Zaragoza: Acribia, pp.186.
- 16 KARIM, A. y BHAT R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. Food Hydrocolloids, Vol. 23. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X08001446>
- 17 MATHEWS, C. 2002. Bioquímica. 3ra. ed. Madrid: Pearson Educación S.A. pp. 192-195
- 18 MIRANDA, R. 2002. Characterization of fish. Publ. Biol. Universidad de Navarra. España pp 38-42. Disponible en: file:///C:/Users/Terminator/Downloads/sz28_002.pdf
- 19 MUYONGA, J. COLE, C. y DUODU, K. 2004. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). Food Chemistry, Vol. 85, 81–89. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814603003364>
- 20 MOSQUERA, M. 2014. Nanoencapsulación de hidrolizados peptídicos con actividades biológicas procedentes de subproductos de la pesca Disponible en: <http://stadium.unad.edu.co/UNAD.php?url=/1096/139/1/2009P-08.pdf>

- 21 PARSONS, D. 1992. Manuales de educación agropecuaria: Curcubitaceas. Zaragoza: Acribia, p. 56.
- 22 PATI, F. ADHIKARI, B. y DHARA, S. 2010. Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability. *Bioresource Technology*, Vol. 101, Issue 10: 3737-3742. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410000507>
- 23 PEÑA, A. 1995. *Bioquímica*. 2da. ed. México: Limusa, pp. 7-8, 65-73
- 24 PÉREZ, Z. y GARCIA, M. 2009. Modelos adaptativos en zoología (manual de prácticas): 5. Esqueletos: hidrostatos, exoesqueletos y endoesqueletos. *Reduca Biología*, Vol. 2, Num. 2: 54-69. Disponible en: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/787>
- 25 POTAROS, T. RAKSAKULTHAI, N. RUNGLERDKREANGKRAI, J. y WORAWATTANAMATEEKUL, W. 2009. Characteristics of Collagen from Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Skin Isolated by Two Different Methods. *Kasetsart Journal*, Vol. 43. Disponible en: <http://www.thaiscience.info/journals/Article/TKJN/10974304.pdf>
- 26 ECUADOR, INSTITUTO DE PROMCIÓN Y EXPORTACIONES E INVERSIONES.2013.
- 27 QUINTERO, J. y ZAPATA, J. 2016. Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta (Tesis de postgrado). Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071807642017000100011&script=sci_abstract
- 28 RAMIREZ, C. DELGADO, E. y ANDRADE, A. 2016. Cuantificación de proteína total en escamas de tilapia y pargo mediante sal de

fenol. Coloquio de Investigación Multidisciplinaria , Vol. 4. Disponible en:

https://www.researchgate.net/profile/Carlos_Ramirez23/publication/309493241_Cuantificacion_de_proteina_total_en_escamas_de_tilapia_y_pargo_mediante_sal_de_fenol/links/58138ef508aeffbed6bc2358.pdf

- 29 RESTREPO, D. ARANGO, C. AMÉZQUITA, A. y RESTREPO, R. 2001. Industria de Carnes. Capítulo I. Microbiología de la carne. Medellín, p. 5.
- 30 SÁNCHEZ, A. ARÍAS J. TORRES, W. MARQUEZ, E. CÁRDENAS, J. LÓPEZ, G. y EZQUERRA, J. 2014. Caracterización de hidrolizados de desechos de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) obtenidos por autohidrólisis y un proceso químico-enzimático. *CyTA - Journal of Food*, Vol. 12, No. 1, 85–96. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2013.801039>
- 31 SERRANO, J. 2011. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*) (Trabajo de postgrado). Disponible en:
<zttp://www.bdigital.unal.edu.co/4880/1/jenifercarolinaserranogaona.pdf>
- 32 SHARPE, P. T. (2001). Desarrollo de la piel en peces óseos con especial énfasis en la deposición de colágeno en la dermis del pez cebra. *El Diario Internacional de Biología del Desarrollo*, pp: 217 - 231. Disponible en: <https://es.slideshare.net/reeac/gente-betta-mexico-tipo-de-escama-ctenoidea-betta-splendens>
- 33 SHOULDERS, M. D. y RAINES, R. T. (2009). Collagen structure and stability. *Annual Review of Biochemistry*, 78, 929. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19344236>
- 34 STRYER, L. 2008. *Bioquímica*. 6ta. ed. Barcelona: REVERTE S.A, pp.183.

- 35 TAHERGORABI, R. y JACZYNSKI, J. 2015. A review: Protein isolates recovered by isoelectric solubilization / precipitation processing from muscle food by-products as a component of nutraceutical foods. Food Research International, Vol. 77. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996915300363>
- 36 TEIJÓN, J. y GARRIDO, P. 2006. Fundamentos de Bioquímica Estructural. 2da ed, Madrid: TEBAR S.L, pp. 73-118
- 37 WANG, C. LU, I. y CHEN, CH. 2008. Evaluating firm technological innovation capability under uncertainty. Technovation, Vol. 28, 349-363. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166497207001393>
- 38 WANG, Y. y REGENSTEIN, J. 2009. Effect of EDTA, HCl, and citric acid on Ca salt removal from Asian (silver) carp scales prior to gelatin extraction. Journal of food science, Vol. 74. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19723178>

ANEXOS

Anexo 1. Test de valoración organoléptico

HOJA DE CATAACION

NOMBRE:

FECHA:

Frente a usted tendrá tres muestras de colágeno, califíquelas una a una y califique los siguientes parámetros según su apreciación.

Recuerde: una vez iniciada la evaluación del aroma recuerde oler el recipiente con café al inicio de la cata y al cambiar de muestra.

Marque con una **x** considerando la siguiente escala de evaluación:

5: Excelente **4:** Muy bueno **3:** Bueno **2:** Regular **1:** Malo

410

580

154

OLOR	5			
	4			
	3			
	2			
	1			

COLOR	5			
	4			
	3			
	2			
	1			

APARIENCIA	5			
	4			
	3			
	2			
	1			

Observaciones: _____

Anexo 2. Reporte de los resultados del análisis bromatológico del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
LABORATORIO DE BROMATOLOGIA Y NUTRICION ANIMAL



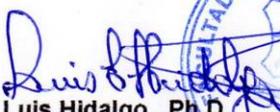
Riobamba 06 de Junio del 2017

CERTIFICADO

A QUIEN CORRESPONDA.

Me complace indicar que la Srta. Carla Mercedes Flores Pino con C.I. 060395435-5, Tesista de la Facultad de Ciencias Pecuarias, Carrera de Ingeniería en Industrias Pecuarias, desarrolló los respectivos análisis de Laboratorio: % de Humedad, Cenizas, Proteína, pH en el **Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal** de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, durante el período del 01 al 26 de Abril del presente año asimilando todos los conocimientos con eficiencia, puntualidad y responsabilidad, de la tesis denominada: **“Extracción de colágeno de las escamas de pescado utilizando diferentes niveles de rennina”**.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizando al interesado hacer uso del presente en lo que bien tuviere.

Atentamente

Dr. Luis Hidalgo., Ph.D.
Decano de la Facultad de Ciencias Pecuarias.



L. N. A.
F.C.P. ESPOCH

B.Q.F. Alicia Zavala
Técnica Responsable del Lab. De Bromatología y Nutrición Animal

Se adjunta una copia del control de asistencia de la tesista.
Se adjunta los resultados obtenidos en el laboratorio.

HOJA DE REPORTE DE RESULTADOS

1.- DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

PARAMETROS	
CODIGO	C.E.R
MUESTRA	COLÁGENO EXTRAÍDO A PARTIR DE ESCAMAS DE PESCADO CON 3 NIVELES DE RENNINA (5%; 10%; 15%)
ESTADO DE LA MUESTRA	SOLIDO
NOMBRE DE LA MUESTRA	COLÁGENO LIOFILIZADO A PARTIR DE ESCAMAS DE PESCADO CON NIVELES DE RENNINA (5%; 10%; 15%).
FECHA DE INICIO DEL TRABAJO DE CAMPO EN EL LABORATORIO	17-02-2017
LUGAR DE MUESTREO	ESPOCH – LAB. DE BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN ANIMAL
FECHA DE MUESTREO	20-02-2017
ANALISIS SOLICITADO	% PROTEÍNA %CENIZAS % HUMEDAD pH

2.- RESULTADOS

- **TRATAMIENTO 1.**

Tabla. Nº1.- EXTRACCIÓN DE COLÁGENO (LIOFILIZADO) CON EL 5% DE RENNINA Y CON 5 REPETICIONES.

PARAMETROS	T.1.1	T.1.2	T.1.3	T.1.4	T.1.5
%HUMEDAD	8,9%	8,8%	8.3%	7.6%	9.0%
%CENIZAS (BASE FRESCA)	51,9%	51,5%	50,8%	52,4%	52,6%
% PROTEINA (BASE FRESCA)	39,2%	38,1%	40,6%	38,8%	38,1%
pH	5,30	5,32	5,12	5,24	5,22

REALIZADO POR: Tesista Carla Flores

FUENTE. LABORATORIO DE BROMATOLOGIA Y NUTRCION ANIMAL

DIRIGIDO POR: B.Q.F. ALICIA ZAVALA

- **TRATAMIENTO 2.**

Tabla. Nº2.- EXTRACCIÓN DE COLÁGENO (LIOFILIZADO) CON EL 10% DE RENNINA Y CON 5 REPETICIONES.

PARAMETROS	T.2.1	T.2.2	T.2.3	T.2.4	T.2.5
%HUMEDAD	7,3%	7,1%	9,0%	8,9%	7,9%
%CENIZAS	52,3%	52,7%	52,3%	51,6%	50,9%
% PROTEINA	40,2%	39,9%	38,5%	39,2%	40,9%
pH	5,34	5,33	5,12	5,28	5,21

REALIZADO POR: Tesista Carla Flores.

FUENTE. LABORATORIO DE BROMATOLOGIA Y NUTRACION ANIMAL

DIRIGIDO POR: B.Q.F. ALICIA ZAVALA

- **TRATAMIENTO 3**

Tabla. Nº3.- EXTRACCIÓN DE COLÁGENO (LIOFILIZADO) CON EL 15% DE RENNINA Y CON 5 REPETICIONES.

PARAMETROS	T.3.1	T.3.2	T.3.3	T.3.4	T.3.5
%HUMEDAD	7,1%	7,1%	8,8%	8,9%	8,8%
%CENIZAS	52,6%	53,7%	52,7%	51,5%	51,9%
% PROTEINA	40,1%	39,2%	38,4%	39,5%	30,2%
pH	5,26	5,30	5,16	5,14	5,18

REALIZADO POR: Tesista Carla Flores.

FUENTE. LABORATORIO DE BROMATOLOGIA Y NUTRACION ANIMAL

DIRIGIDO POR: B.Q.F. ALICIA ZAVALA.

ATENTAMENTE.

B.Q.F. ALICIA Z.



**TÉCNICO RESPONSABLE DEL LAB. DE BROMATOLOGÍA
Y NUTRICION ANIMAL-ESPOCH**

FECHA DE ENTREGA: 06/06/2017

Anexo 3. Análisis estadístico del contenido de humedad (%), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Niveles	0.64	2	0.32	0.49	0.6239
Error	7.77	12	0.65		
Total	8.41	14			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Nivel de rennina	Medias	n	E.E.	Rango
10	8.03	5	0.36	a
15	8.14	5	0.36	a
5	8.51	5	0.36	a

Anexo 4. Análisis estadístico del contenido de Materia seca (%), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Niveles	0.64	2	0.32	0.49	0.6239
Error	7.77	12	0.65		
Total	8.41	14			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Nivel de rennina	Medias	n	E.E.	Rango
5	91.49	5	0.36	a
15	91.86	5	0.36	a
10	91.97	5	0.36	a

Anexo 5. Análisis estadístico del contenido de Proteína (%), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
NIVELES	1.47	2	0.74	0.97	0.4085
Error	9.16	12	0.76		
Total	10.63	14			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Niveles de rennina, %	Medias	n	E.E.	Rango
5	38.95	5	0.39	a
15	39.29	5	0.39	a
10	39.72	5	0.39	a

Anexo 6. Análisis estadístico del contenido de Cenizas (%), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
NIVELES	1.23	2	0.61	1.06	0.3773
Error	6.96	12	0.58		
Total	8.19	14			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Niveles de rennina, %	Medias	n	E.E.	Rango
5	51.84	5	0.34	a
10	51.97	5	0.34	a
15	52.5	5	0.34	a

Anexo 7. Análisis estadístico del pH, del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
NIVELES	0.01	2	3.0E-03	0.46	0.6402
Error	0.08	12	0.1		
Total	0.08	14			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Niveles de rennina, %	Medias	n	E.E.	Rango
15	5.21	5	0.04	a
5	5.24	5	0.04	a
10	5.26	5	0.04	a

Anexo 8. Análisis estadístico de la Conductividad, del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
NIVELES	813.74	2	406.87	428.28	<0.0001
Error	11.4	12	0.95		
Total	825.14	14			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Niveles de rennina, %	Medias	n	E.E.	Rango
5	44.76	5	0.44	a
10	53.58	5	0.44	b
15	62.8	5	0.44	c

C. REGRESIÓN

	<i>gl</i>	SC	PC	F	Valor crítico de F
Regresión	1	813.604	813.604	917.068092	1.92556E-13
Residuos	13	11.53333333	0.88717949		
Total	14	825.137333			

Anexo 9. Valores del análisis organoléptico del colágeno utilizando diferentes de rennina.

<u>Características organolépticas (sobre 5 puntos)</u>					
<u>N. de rennina, %</u>	<u>Repet.</u>	<u>Color (puntos)</u>	<u>Olor (puntos)</u>	<u>Apariencia (puntos)</u>	<u>Total (15 puntos)</u>
5	1	3.33	3.33	3.00	9.67
5	2	7.33	5.33	6.33	19.00
5	3	3.33	3.33	3.67	10.33
5	4	4.00	3.00	4.00	11.00
10	1	3.33	3.67	3.33	10.33
10	2	7.67	6.33	7.00	21.00
10	3	2.67	3.00	2.33	8.00
10	4	3.33	2.67	3.33	9.33
15	1	3.67	3.33	3.00	10.00
15	2	8.33	7.00	7.67	23.00
15	3	2.67	2.33	2.67	7.67
15	4	2.67	3.00	3.00	8.67

Anexo 10. Análisis estadístico de la apariencia (sobre 5 puntos), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	0.13	2	0.07	0.02	0.9838
Error	36.18	9	4.02		
Total	36.31	11			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Niveles de rennina, %	Medias	n	E.E.	Rango
10	4	4	1	a
15	4.09	4	1	a
5	4.25	4	1	a

Anexo 11. Análisis estadístico del Color (sobre 5 puntos), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	0.13	2	0.06	0.01	0.9884
Error	48.83	9	5.43		
Total	48.96	11			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Niveles de rennina, %	Medias	n	E.E.	Rango
10	4.25	4	1.16	a
15	4.34	4	1.16	a
5	4.5	4	1.16	a

Anexo 12. Análisis estadístico del Olor (sobre 5 puntos), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	0.08	2	0.04	0.01	0.9864
Error	24.9	9	2.77		
Total	24.98	11			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Niveles de rennina, %	Medias	n	E.E.	Rango
5	3.75	4	0.83	a
15	3.92	4	0.83	a
10	3.92	4	0.83	a

Anexo 13. Análisis estadístico de la valoración organoléptica total (sobre 15 puntos), del colágeno utilizando diferentes niveles de rennina.

A. ANALISIS DE VARIANZA

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	0.22	2	0.11	3.20E-03	0.9968
Error	318.42	9	35.38		
Total	318.64	11			

B. SEPRACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P<0,05)

Niveles de rennina, %	Medias	n	E.E.	Rango
10	12.17	4	2.97	a
15	12.34	4	2.97	a
5	12.5	4	2.97	a