



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS**  
**INDUSTRIALES**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN**  
**INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL**  
**COLÁGENO OBTENIDO A PARTIR DE ESCAMAS DE CARACHI**  
**AMARILLO (*Orestias luteus*)”**

**Gavy Lilyan Cuela Mamani**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE**  
**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Asesora: D.Sc. Elizabeth Huanatico Suarez**

**Co-asesor: M.Sc Adaliht Jhony Arisaca Parillo**

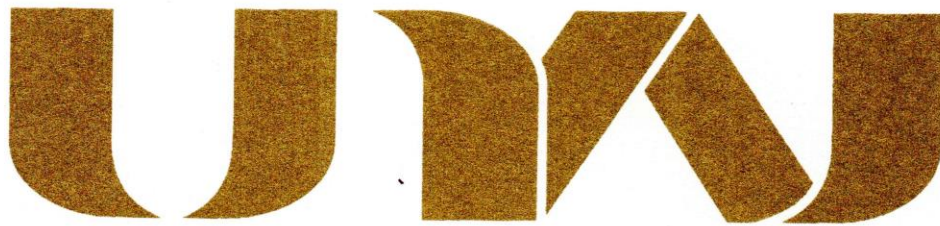
**Juliaca, 2023**





**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS**  
**INDUSTRIALES**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN**  
**INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL**  
**COLÁGENO OBTENIDO A PARTIR DE ESCAMAS DE CARACHI**  
**AMARILLO (*Orestias luteus*)”**

**Gavy Lilyan Cuela Mamani**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE**  
**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Asesora: D.Sc. Elizabeth Huanatico Suarez**

**Co-asesor: M.Sc Adaliht Jhony Arisaca Parillo**

**Juliaca, 2023**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS  
INDUSTRIALES**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN  
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL  
COLÁGENO OBTENIDO A PARTIR DE ESCAMAS DE CARACHI  
AMARILLO (*Orestias luteus*)”**

Gavy Lilyan Cuela Mamani

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Asesora: D.Sc. Elizabeth Huanatico Suarez

Co-asesor: M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parillo

Juliaca, 2023

## FICHA CATALOGRÁFICA

Cuela, G. (2023). *Extracción y evaluación de las características del colágeno obtenido a partir de escamas de carachi amarillo (Orestias luteus)*. [Tesis de pregrado en Ingeniería, Universidad Nacional de Juliaca]. Juliaca

**AUTOR:** Gavy Lilyan Cuela Mamani

**TÍTULO:** Extracción y evaluación de las características del colágeno obtenido a partir de escamas de carachi amarillo (*Orestias luteus*)

**PUBLICACIÓN:** Juliaca, 2023

**DESCRIPCIÓN:** Cantidad de páginas (107 pp)

**NOTA:** Tesis de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias- Universidad Nacional de Juliaca

**CÓDIGO:** 03-000022-03/C93

**NOTA:** Incluye bibliografía

**ASESOR:** D.Sc. Elizabeth Huanatico Suarez

**CO-ASESOR:** M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parillo

**PALABRAS CLAVES:** Colágeno, escama, fuerza gel, hidrólisis, hidroxiprolina.

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS INDUSTRIALES**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS**

**ALIMENTARIAS**

**“EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL**

**COLÁGENO OBTENIDO A PARTIR DE ESCAMAS DE CARACHI**

**AMARILLO (*Orestias luteus*)”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE**

**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Presentada por:**

**Gavy Lilyan Cuela Mamani**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

**Dr. Julio Machaca Yana**

**PRESIDENTE DE JURADO**

**M.Sc. Lenin Quille Quille**

**JURADO (secretario)**

**Mag. Mateo Quispe Capajaña**

**JURADO (Vocal)**

**D.Sc. Elizabeth Huanatico Suarez**

**ASESOR DE TESIS**

**2° MIEMBRO**

**3° MIEMBRO**

**M.Sc. Adalht Jhony Arisaca Parillo**

**CO-ASESOR DE TESIS**

## **DEDICATORIA**

A Dios, por iluminar mi camino y preservar mi vida y llenarme de fortaleza para vencer todas las barreras. A mis padres, Lucila Mamani Yanapa y Mario Cuela Paricanaza, quienes fueron mi mayor apoyo en mi formación profesional me apoyaron incondicionalmente, ellos me dieron la base para llegar a ser quien soy ahora. A mis hermanos(as) quienes han sido mi ejemplo y lucha para alcanzar mis metas.

## **AGRADECIMIENTO**

Mi agradecimiento a la Universidad Nacional de Juliaca, por haberme permitido formarme como profesional de la carrera de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

A mis asesores Dr.Sc. Elizabeth Huanatico Suarez, por brindarme su apoyo, dedicación y compartir sus conocimientos de manera profesional y al M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parillo, por su orientación, compromiso, perseverancia y tolerancia, han sido fundamentales para poder avanzar de manera exitosa el trabajo de investigación.

A mis jurados, Dr. Julio Machaca Yana, M.Sc. Lenin Quille Quille y M.Sc. Mateo Quispe Capajaña, por sus observaciones realizadas, sugerencias, orientación para mejorar el desarrollo de la investigación.

Agradezco al M.Sc. Rolando Rody Jara Huaranca, Ing. Juan Praxides Zevallos Curro, Ing. Hugo Laura Cruz, por su paciencia en la resolución de las dudas y dificultades que surgieron en el laboratorio. Sus orientaciones fueron de gran ayuda para mejorar los procedimientos experimentales de la investigación.

A mi familia, por su constante apoyo y comprensión a lo largo de este recorrido académico, su confianza en mí y su motivación fueron un pilar fundamental en cada paso para llegar a este punto. A mis amigos por su colaboración, intercambio de ideas y apoyo mutuo.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE GENERAL.....	vi
ÍNDICE DE TABLA.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	xvii

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	18
1.1.1. Pregunta general.....	19
1.1.2. Preguntas específicas.....	19
1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	19
1.2.1. Objetivo general.....	19
1.2.2. Objetivos específicos.....	19
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	20

**CAPÍTULO II**  
**REVISIÓN DE LITERATURA**

2.1.	ANTECEDENTES .....	21
2.2.	CARACHI AMARILLO ( <i>Orestias luteus</i> ).....	23
2.2.1.	Generalidades.....	23
2.2.2.	Clasificación taxonómica del carachi amarillo ( <i>Orestias luteus</i> ) .....	24
2.2.3.	Especies nativos de la cuenca del lago Titicaca .....	25
2.2.4.	Composición química .....	25
2.2.5.	Distribución geográfica.....	25
2.2.6.	Pesquería del recurso .....	26
2.2.7.	Producción pesquera.....	26
2.3.	ESCAMAS DE PESCADO .....	27
2.3.1.	Generalidades.....	27
2.3.2.	Composición química .....	27
2.3.3.	Tipos de escama.....	28
a)	Placoides .....	29
b)	Cosmoides.....	29
c)	Ganoides .....	30
d)	Cicloides y ctenoides .....	30
2.3.4.	Aplicación de las escamas de pescado en la industria .....	30
2.4.	PROTEÍNAS .....	30
2.4.1.	Proteínas estructurales .....	32
2.4.2.	Proteínas sarcoplasmáticas .....	32
2.4.3.	Proteínas del tejido conectivo .....	32

2.5.	COLÁGENO .....	33
2.5.1.	Generalidades.....	33
2.5.2.	Estructura del colágeno.....	33
2.5.3.	Tipos .....	35
2.5.4.	Composición fisicoquímica del colágeno .....	36
2.5.5.	Uso del colágeno.....	36
2.5.6.	Métodos de extracción del colágeno.....	37
2.6.	FUERZA GEL .....	38
2.7.	HIDROXIPROLINA EN EL COLÁGENO .....	38
2.8.	CONCEPTOS MICROBIOLÓGICOS.....	40
2.8.1.	Coliformes .....	40
2.8.2.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
2.8.3.	Mohos y levaduras .....	40

### **CAPÍTULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1.	ÁMBITOS DE ESTUDIO .....	42
3.2.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	42
3.3.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS .....	42
3.3.1.	Materiales usados en el laboratorio .....	42
3.3.2.	Equipos e instrumentos.....	43
3.3.3.	Reactivos e insumos.....	43
3.4.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....	44
3.4.1.	Tipo de enfoque de investigación .....	44

3.4.2. Diseño de investigación.....	44
3.4.3. Diagrama de flujo .....	45
3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	48
3.5.1. Diseño Experimental.....	48
3.6. HIPOTESIS DE LA INVESTIGACIÓN.....	56
3.6.1. Hipótesis general.....	56
3.6.2. Hipótesis específicas.....	56

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA .....	57
4.2. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL COLÁGENO.....	59
4.3. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DEL COLÁGENO .....	62
4.4. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE HIDROXIPROLINA .....	70
4.5. CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL COLÁGENO.....	72

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

5.1. CONCLUSIONES .....	74
5.2. RECOMENDACIONES.....	75
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	76
ANEXOS .....	84

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición química nutricional del carachi amarillo ( <i>Orestias luteus</i> ).....	25
Tabla 2: Región Puno producción pesquera 1/ (En TM).....	27
Tabla 3: Composición química proximal de escamas de tilapia y lisa .....	28
Tabla 4: Tipos de colágeno.....	35
Tabla 5: Composición química proximales del colágeno.....	36
Tabla 6: Cantidad de hidroxiprolina en colágenos obtenidos de diferentes especies.....	39
Tabla 7: Matriz de diseño DCCR para el rendimiento .....	49
Tabla 8: Matriz de diseño DCCR para la caracterización fisicoquímica .....	51
Tabla 9: Criterios físico - organoléptico del carachi amarillo .....	57
Tabla 10: Características fisicoquímicos de las escamas de carachi amarillo.....	58
Tabla 11: Resultados del rendimiento del colágeno .....	59
Tabla 12: Resultados de la determinación de fuerza gel y pH del colágeno .....	62
Tabla 13: Resultados de la caracterización química del colágeno .....	65
Tabla 14: Datos para la curva de calibración de hidroxiprolina.....	70
Tabla 15: Contenido de hidroxiprolina en el colágeno.....	71
Tabla 16: Resultados de los análisis microbiológicos .....	72
Tabla 17: Criterios de clasificación y valores asignados para pescado frescos.....	84
Tabla 18: Absorbancia leída con el espectrofotómetro UV- VIS.....	94
Tabla 19: Resultado de la concentración de hidroxiprolina .....	95
Tabla 20: Valores de hidroxiprolina.....	95
Tabla 21: Análisis de varianza para rendimiento .....	96
Tabla 22: Valores óptimos de concentración y tiempo .....	96
Tabla 23: Análisis de Varianza para fuerza gel.....	97

Tabla 24: Análisis de Varianza para pH.....	98
Tabla 25: Análisis de Varianza para humedad .....	99
Tabla 26: Análisis de Varianza para ceniza.....	100
Tabla 27: Análisis de Varianza para proteína.....	101
Tabla 28: ANOVA para hidroxiprolina por tratamiento .....	102

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Carachi amarillo ( <i>Orestias luteus</i> ) .....	24
Figura 2: Principales tipos de escamas de peces .....	29
Figura 3: Formula estructural de la prolina e hidroxiprolina.....	31
Figura 4: Representación esquemática de la molécula del colágeno.....	34
Figura 5: Diagrama de flujo para la extracción del colágeno.....	45
Figura 6: Diseño experimental de la extracción de colágeno .....	48
Figura 7: Diseño del dispositivo para medir la fuerza gel del colágeno.....	53
Figura 8: Efectos principales del rendimiento .....	60
Figura 9: Superficie de respuesta del rendimiento .....	61
Figura 10: Efectos principales y superficie de respuesta de fuerza gel. ....	63
Figura 11: Gráfica de efectos principales y superficie de respuesta de pH.....	64
Figura 12: Gráfico de efectos principales y superficie de respuesta de la humedad .....	67
Figura 13: Gráfico de efectos principales y superficie de respuesta de la ceniza .....	68
Figura 14: Gráfica de efectos principales y superficie de respuesta de la proteína.....	69
Figura 15: Curva de calibración .....	70
Figura 16: Grafico de medias y 95.0% de Tukey HSD.....	71
Figura 17: Lavado de materia prima.....	85
Figura 18: Desescamado del pescado.....	85
Figura 19: Lavado de las escamas .....	85
Figura 20: Escamas seca de carachi .....	85
Figura 21: Pesado de las escamas.....	85
Figura 22: Preparación de reactivos .....	85
Figura 23: Hidrólisis a diferentes tiempos y concentraciones de NaOH.....	86

Figura 24: Neutralización con ácido acético .....	86
Figura 25: Medición del pH de las muestras .....	86
Figura 26: Tratamiento térmico de colágeno a 60°C a 180 min.....	86
Figura 27: Filtración del colágeno.....	86
Figura 28: Secado del colágeno a 75°C por 12 horas.....	87
Figura 29: Molienda de la muestra de colágeno.....	87
Figura 30: Pesado y almacenamiento de las muestras de colágeno .....	87
Figura 31: Pesado del colágeno .....	90
Figura 32: Preparación de solución al 6.67% a 60°C .....	90
Figura 33: Refrigerado del colágeno .....	90
Figura 34: Dispositivo para medir fuerza gel .....	90
Figura 35: Medición de la fuerza gel.....	90
Figura 36: Pesado de la cantidad de agua que soporto el gel .....	90
Figura 37: Reactivos y muestra a usar en la cuantificación de hidroxiprolina.....	93
Figura 38: Preparación de la solución buffer y citrato .....	93
Figura 39: Acondicionamiento de las muestras.....	93
Figura 40: Solución oxidante y reactivo de color.....	93
Figura 41: Preparación de las muestras y reactivos.....	93
Figura 42: Medición de la absorbancia en espectrofotómetro.....	93

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Evaluación físico- organoléptico del pescado .....	84
Anexo 2: Fotografías de la extracción de colágeno a partir de escamas de carachi .....	85
Anexo 3: Balance de materia de la obtención de colágeno por tratamiento.....	88
Anexo 4: Fotografías de la determinación de fuerza gel .....	90
Anexo 5: Método de caracterización físico química .....	91
Anexo 6: Fotografías de la determinación de hidroxiprolina .....	93
Anexo 7: Cálculo para determinar la concentración de hidroxiprolina.....	94
Anexo 8: Resultados de Análisis de varianza del rendimiento .....	96
Anexo 9: Resultados del Análisis de Varianza de fuerza gel .....	97
Anexo 10: Resultados del Análisis de Varianza del pH.....	98
Anexo 11: Resultados del Análisis de Varianza de humedad .....	99
Anexo 12: Resultados del Análisis de Varianza de ceniza.....	100
Anexo 13: Resultados del análisis de varianza de la proteína.....	101
Anexo 14: Resultados del ANOVA de la hidroxiprolina .....	102
Anexo 15: Procedimiento de análisis microbiológica según DIGESA .....	103
Anexo 16: Análisis fisicoquímico del colágeno .....	105
Anexo 17: Análisis microbiológico del colágeno.....	106
Anexo 18: Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos.....	107

## RESUMEN

El carachi amarillo (*Orestias luteus*), es un pescado propio del lago Titicaca, consumido por la población ribereña del lago y presenta alto contenido de proteína. Dentro de los despojos del carachi se tiene las escamas que son fuente de colágeno. El objetivo de la investigación fue, extraer y evaluar las características del colágeno obtenido a partir de escamas de carachi amarillo (*Orestias luteus*). Se ha extraído el colágeno mediante el uso de hidróxido de sodio a (concentraciones de 0.26, 0.3, 0.4, 0.5, 0.54 moles), tratados a diferentes tiempos de hidrólisis (4.76, 6, 9, 12, 13.24 horas), determinándose el rendimiento, caracterización fisicoquímica, determinación del contenido de hidroxiprolina y caracterización microbiológica del colágeno. Se aplicó un diseño central compuesto rotatable (DCCR) de 12 tratamientos con 4 puntos centrales, se realizó el análisis de datos mediante el software estadístico STATGRAPHICS. Encontrando un rendimiento de 8.54% a concentraciones de 0.54M de hidróxido de sodio y un tiempo de 4.76 horas de hidrólisis. En cuanto a las características fisicoquímicas en base húmeda, tenemos 5001.381 gr/cm<sup>2</sup> de fuerza gel (0.39M de NaOH y un tiempo de 9.6 horas), 7.39 de pH (0.50M de NaOH y un tiempo de 11.44 horas), 95.63% de humedad (0.54 M de NaOH y un tiempo de 9.28 horas), -0.05 de ceniza (0.23M de NaOH y un tiempo de 13.24 horas), 3.78% de proteína (0.54 M de NaOH y un tiempo de 7.49 horas). El contenido de hidroxiprolina es de 7.16% correspondiente al tratamiento T6 (0.54M de hidróxido de sodio con un tiempo de 9 horas), los resultados microbiológicos cumplen con los requisitos mínimos permisibles establecido por la norma MINSA.

**Palabras clave:** Colágeno, escama, fuerza gel, hidrólisis, hidroxiprolina.

## ABSTRACT

The yellow carachi (*Orestias luteus*) is a fish typical of Lake Titicaca, consumed by the lake's riverside population and has a high protein content. Within the carachi offal there are the scales that are a source of collagen. The objective of the research was to extract and evaluate the characteristics of collagen obtained from yellow carachi scales (*Orestias luteus*). Collagen has been extracted using sodium hydroxide at (concentrations of 0.26, 0.3, 0.4, 0.5, 0.54 moles), treated at different hydrolysis times (4.76, 6, 9, 12, 13.24 hours), determining the yield, physicochemical characterization, determination of hydroxyproline content and microbiological characterization of collagen. A rotatable central composite design (DCCR) of 12 treatments with 4 central points was applied, data analysis was performed using the STATGRAPHICS statistical software. Finding a yield of 8.54% at concentrations of 0.54M sodium hydroxide and a hydrolysis time of 4.76 hours. Regarding the physicochemical characteristics on a wet basis, we have 5001.381 gr/cm<sup>2</sup> of gel strength (0.39M of NaOH and a time of 9.6 hours), 7.39 of pH (0.50M of NaOH and a time of 11.44 hours), 95.63 % humidity (0.54 M NaOH and a time of 9.28 hours), -0.05 ash (0.23M NaOH and a time of 13.24 hours), 3.78% protein (0.54 M NaOH and a time of 7.49 hours). The hydroxyproline content is 7.16% corresponding to the T6 treatment (0.54M sodium hydroxide with a time of 9 hours), the microbiological results meet the minimum permissible requirements established by the MINSA standard.

**Keywords:** Collagen, scale, gel strength, hydrolysis, hydroxyproline.

## INTRODUCCIÓN

El género *Orestias* es oriundo de los lagos de gran altitud (lago Titicaca) y ríos tributarios de los Andes del Perú, Bolivia y Chile en la que posee una diversidad íctica con tres clases de especies nativas *Orestias*, *Astroblepus* y *Trichomycterus* (Parenti, 1984). El Carachi es una de las especies con fuentes de proteína, nutrientes esenciales principalmente para el desarrollo humano (Roque, 2019). La incorporación de especies foráneas y los impactos ambientales, sobre pesca han causado una disminución en la población de ciertas especies (de Sosa *et al.*, 2010). Sin embargo, buscamos indirectamente revalorar nuestra especie y e masificar su producción, ya que tiene buenos potenciales como es el colágeno en las escamas.

El colágeno es la proteína que se encuentra en los vertebrados y constituye aproximadamente el 25% de las proteínas totales (Ogawa *et al.*, 2004), que contribuye a las características fisiológicas, funciones de los tejidos (Jongjareonrak., *et al.*, 2005). Por sus características el colágeno, tiene amplia utilidad en la industria alimentaria, industrias fotográficas, cosmética y farmacéutica, generalmente el colágeno se extrae de origen bovino o porcino (Ogawa *et al.*, 2004). El colágeno de pescado tiene varias ventajas que consisten en una alta seguridad (sin fiebre aftosa del cerdo o encefalopatía espongiiforme bovina y encefalopatía espongiiforme transmisible de la vaca) (Sahithi *et al.*, 2013), capacidad de absorción, sin limitaciones religiosas y barato (El-Rashidy *et al.*, 2015). Los subproductos del pescado procesado, han ganado cada vez más atención como una alternativa para extraer colágenos con respecto a los animales terrestres (Jongjareonrak *et al.*, 2005), más del 30% del procesamiento de pescado subproductos consisten en piel, escamas y huesos, que son ricos en colágeno (Kittiphattanabawon *et al.*, 2005).

La investigación se desarrolló como finalidad de, extraer y evaluar las características de colágeno obtenido a partir de las escamas de carachi amarillo, a través de un proceso de hidrólisis alcalina a diferentes tiempos y concentraciones de hidróxido de sodio, se determinó el rendimiento, usando el diseño compuesto central rotatable. Asimismo, se realizó la evaluación de las características fisicoquímicas (fuerza gel, pH, humedad, ceniza, proteína) a su vez se determinó la cantidad de hidroxiprolina y las características microbiológicas del colágeno obtenido.

## **CAPÍTULO I**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

La fuentes primarias del colágeno son de origen porcino y vacuno (Almeida *et al.*, 2013), pero durante la última década, la comunidad científica ha buscado nuevos métodos de extracción como respuesta al rechazo provocado por la convicción religiosa y las enfermedades bovinas, pueden afectar y transmitirse de animales a los humanos (Liu y Huang, 2016). En los últimos tiempos, se ha prestado más atención al uso del colágeno derivado del pescado, esto se debe a que los subproductos del pescado contienen mayor cantidad de colágeno y son considerados una fuente más segura en comparación con animales terrestres (El-Rashidy *et al.*, 2015).

Los desechos del procesamiento de pescado que incluyendo la piel, los huesos y escamas han recibido cada vez mayor atención, son buenos sustitutos del colágeno obtenido de mamíferos (Huang *et al.*, 2016), las escamas de pescado tienen un contenido considerable de colágeno y desconocer de sus propiedades proteicas hace que no se aproveche para su consumo del distinto residuos de pescado (Basualdo y Delgado, 2009), la abundante proteína de los sub productos motiva el que sean transformadas en productos de mayor valor agregado (Gomez *et al.*, 2011). Hay estudios donde muestran que han sido posible su obtención de colágeno, de pescados como tilapia a partir de su piel, escamas y espinas (Quintero y Zapana, 2016).

Sin embargo, no se ha investigado la extracción del colágeno de las escamas de carachi amarillo, ya que en la actualidad no se les da un uso adecuado por ende son desechadas, una de las alternativas para su aprovechamiento de este residuo es la extracción de colágeno y evaluar sus características del colágeno, además determinar el rendimiento a diferentes tiempos y concentraciones de hidróxido de sodio, así mismo, ver sus

características fisicoquímicas, determinar el contenido de hidroxiprolina, dado que “es un aminoácido característico del colágeno” (Braña *et al.*, 2011) y ver sus características microbiológicas para garantizar la salubridad y seguridad del alimento (DIGESA, 2001), por ello nos planteamos las siguientes preguntas.

#### **1.1.1. Pregunta general**

- ¿Será posible extraer y evaluar las características del colágeno obtenido a partir de escamas de carachi amarillo (*Orestias luteus*)?

#### **1.1.2. Preguntas específicas**

- ¿Cuál será el rendimiento del colágeno extraído a diferentes tiempos y concentraciones de hidróxido de sodio?
- ¿Cuáles son las características fisicoquímicas del colágeno obtenido a diferentes tiempos y concentraciones de hidróxido de sodio?
- ¿Cuál será el contenido de la hidroxiprolina y las características microbiológicas del colágeno obtenido?

### **1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **1.2.1. Objetivo general**

- Extraer y evaluar las características del colágeno obtenido a partir de las escamas de carachi amarillo (*Orestias luteus*).

#### **1.2.2. Objetivos específicos**

- Determinar el rendimiento del colágeno extraído a diferentes tiempos y concentraciones de hidróxido de sodio.
- Evaluar las características fisicoquímicas del colágeno obtenidos a diferentes tiempos y concentraciones de hidróxido de sodio.
- Determinar el contenido de hidroxiprolina y características microbiológicas del colágeno.

### 1.3. JUSTIFICACIÓN

El carachi es una especie común en la cuenca del lago Titicaca, donde la gente de las riberas lo consume (Chavez, 2018). El carachi amarillo posee bondades como el colágeno en sus escamas, es por ello que esta investigación busca plantear una alternativa para extraer colágeno a partir de las escamas de carachi amarillo a diferentes tiempos y concentraciones de hidróxido de sodio, para su probable aplicación en la industria alimentaria. Así mismo, de manera indirecta se busca revalorar, motivar su buen manejo y producción del pescado, se espera que la población, las empresas y la población se preocupen más por mantener este valioso recurso (Chura y Mollocondo, 2009).

La abundante fuente de proteína de los subproductos marinos son motivados para convertirse en productos de mayor valor agregado, como las escamas de pescado donde se puede recuperar proteínas comerciales valiosas como el colágeno (Gomez *et al.*, 2011), ya que es la proteína animal más abundante (Muyonga *et al.*, 2004), por lo que se han llevado a cabo investigaciones en todo el mundo para extraer colágeno, como de varios tipos de peces a partir de distintos residuos como son, de escamas (Ikoma *et al.*, 2003), piel de pescado (Serrano, 2011) y huesos de pescado (Li *et al.*, 2013).

Con el paso de los años se ha comenzado a introducir en el mercado suplementos nutricionales orales, en la creación de estos productos, se ha optado por utilizar colágeno marino en lugar del colágeno bovino tradicional debido a su mayor disponibilidad y capacidad de ser absorbido y utilizado para la regeneración del tejido conjuntivo (Alzamora *et al.*, 2019).

El colágeno es utilizado en galletas, aditivos para otro tipo de bebidas con el propósito de prevenir los signos de envejecimiento (Schoof *et al.*, 2001). Además tiene la facilidad de convertirse en gel, espesante, unir y crear películas o capas, lo que permite tener texturas únicas (Anzueta, 2020).

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **2.1. ANTECEDENTES**

Barrenechea (2019), estudió el proceso de extracción de colágeno de piel de paiche, los hallazgos indicaron que durante un tiempo de 12 horas y una concentración adecuada de hidróxido de potasio fue 1N en una relación de 1:5 p/v. Para lograr la extracción, se experimentaron tres temperaturas, 50 °C, 60 °C y 70 °C, la mejor temperatura fue de 70 °C con 3 horas de extracción, el análisis de la mejor temperatura se realizó en función de la fuerza de gel. El resultado obtenido fue, 962 gr/cm<sup>2</sup> de fuerza gel y 7.11% de rendimiento, en cuanto a los análisis fisicoquímicos, ha obtenido resultados del 90% de proteína y 10% de humedad; y los análisis microbiológicos evaluados se mantuvieron por debajo de los límites máximos recomendados.

Quispe y Gutierrez (2019), realizaron la investigación con el objetivo de, caracterizar las propiedades físicas y químicas de la materia prima y del producto final, obtener el rendimiento del colágeno a partir del método de hidrólisis ácida - base de los residuos de la trucha. Los valores físico químicos cercanos de los residuos de la trucha fueron: el 14.48% de proteínas, el 11.01% de grasa, el 3.81% de cenizas, el 70.68% de humedad, el 0.00% de fibra, el 0.02% de carbohidratos y 157.09 kcal/100g de energía. Se evaluaron tres variables independientes concentración de ácido cítrico (0.2 – 0.7M), temperatura (40 – 60°C), tiempo (60 – 180°C). Han obtenido colágeno con una concentración de ácido acético del 0.7%, utilizando una temperatura de 60 °C y lo dejaron reposar durante 120 minutos. Las características fisicoquímicas del colágeno fueron las siguientes: 2.79% de proteínas, 0.14% de grasa, 0.19% de cenizas, 96.89% de humedad, 0.00% de fibra, 0% de carbohidratos y una energía de 12.42 kcal/100g en base húmeda. El rendimiento de la extracción fue de 16.97% a partir de este colágeno se elaboró gelatina.

En su estudio Ramos (2018), obtuvo colágeno mediante el método de extracción sólido-líquido utilizando escamas de peces rojos y pardos. Usaron mezcla de escamas/ solvente (agua) con relaciones de 10:90 y 2:98, a diferentes temperaturas de 30 y 90°C y diámetros de partícula de 2 a 10 mm. Concluyendo que la relación de escamas/ solvente (10:90), a 90°C y 2mm fue la mejor relación para la extracción solido-liquido, con un rendimiento del 60%, en cuanto a las características microbiológicas del colágeno fueron aceptables para su consumo como ha establecido la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria.

Mamani (2018), determinó los parámetros ideales para el proceso de extracción de colágeno de tarso de pollo provenientes del beneficio de aves, además de caracterizar fisicoquímicamente, los parámetros considerados, fueron a una concentración de 0.25 mol de NaOH con un tiempo de 06 horas a temperaturas ambientales para la hidrólisis y para la extracción de colágeno el tiempo adecuado fue de 03 horas y temperaturas de 80 °C. Bajo estas condiciones, el rendimiento óptimo del proceso fue el 11.21% y sus características fisicoquímicas fueron, contenido proteico del 75.57%. que está dentro del rango típico del colágeno, el autor indica que es apto para su uso en la industria alimentaria.

Quintero y Zapana (2016), evaluaron tres regiones anatómicas de la tilapia roja (*Oreochromis spp*), las escamas, espinas y piel para determinar cómo la temperatura y la concentración de hidrolizante afecta la extracción de colágeno soluble en ácido. Se optimizo el proceso de extracción en las etapas de hidrólisis básica (NaOH) e hidrolisis acido (CH<sub>3</sub>-COOH), para la liberación de proteínas de tejidos conectivos. Los hallazgos indicaron que las matrices examinadas liberaron mayor cantidad de proteína del tejido conectivo a 25°C y 0.4M de NaOH, en cuanto a la hidrólisis acida una solución de 0.7M de CH<sub>3</sub>-COOH y temperaturas de 18,5°C, 11.0°C y 21,5°C obteniendo rendimientos de colágeno de la piel (0,88%), escamas (2,16%) y espinas (0,51%).

En la investigación de Wang *et al.* (2008), evaluaron la obtención de colágeno de la piel, escamas y huesos de gallineta nórdica de aguas profundas se aislaron con ácido acético. Obteniendo rendimiento de piel (47,5%) lo cual fue significativamente mayor que el de escama y hueso (6,8% y 10,3%, respectivamente). Las temperaturas de desnaturalización de piel, escama y hueso fueron de 16,1 °C, 17,7 °C y 17,5 °C, respectivamente, que fueron más bajas que las de la mayoría de las otras especies. Los aminoácidos de estos colágenos eran

similares con un bajo contenido de aminoácidos, eran principalmente de tipo I y se mantuvieron bien sus estructuras de triple hélice.

Tabarestani *et al.* (2010), evaluaron las propiedades físico-químicas de gelatina extraídas de la piel de Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), se optimizaron la concentración de NaOH (0,01 hasta 0,21 N), la concentración de ácido acético (0,01-0,21 N) y el tiempo de pretratamiento (1-3 h), la respuesta múltiple en condiciones óptimas fueron que rendimiento de 9,36 %, (1:2) fuerza de gel de 459 g, viscosidad de 3.2 mPa y el punto de fusión de 20,4, se obtuvo, la condición óptima utilizando 0,19 N de NaOH y 0,121 N de ácido acético durante 3 h.

## **2.2. CARACHI AMARILLO (*Orestias luteus*)**

### **2.2.1. Generalidades**

Es un pez típico del litoral lacustre, se desplazan verticalmente de día y noche, su alimentación se basa de moluscos, su población ha reducido considerablemente, con efecto de la pesca inadecuada y proliferación de pejerreyes. Su distribución geográfica ha reducido en los lagos y corrientes de los Andes del Perú, Bolivia y Chile, la cuenca del lago Titicaca es hogar de más del 50% de las 43 especies registradas, de las cuales 23 especies son autóctonas (DIREPRO, 2008).

El carachi amarillo, es de color amarillo y tiene un cuerpo alargado que está cubierto por escamas ctenoideas (CIDAB, 2003). Su cola tiene un pedúnculo que termina en lóbulos iguales y tiene puntos negros y redondeadas, la forma de su cabeza es triangular de color oscuro y dos ojos, tiene una boca que puede proyectarse hacia afuera y posee mandíbulas. Además, tiene dos aletas pectorales, una aleta dorsal en la parte posterior, una aleta anal y aleta caudal, internamente, el sistema digestivo comienza en la boca con pre maxilares y maxilar protractil, que pueden extenderse de dientes cortos y escaso, su laringe es pequeña y lisa, después del esófago esta su estómago, así como el hígado voluminoso y de color rojizo, en el mismo lugar se encuentra la vesícula biliar de forma redonda y de color amarillo verdoso, así como el corazón muy pequeño. En el caso del macho, tiene un testículo alargado que se conecta con el orificio genital, mientras que en la hembra solo tiene un ovario. Su dieta consiste principalmente en alimentos carnívoros bentónico y no es muy variada (Qollasuyo, 2003).

También conocido como, Punku, Punkuru (Aymará), (K'ello), así mismo el cuerpo de un pez maduro presenta una coloración café negruzca en la parte dorsal del tronco y un color amarillento potente en la parte central. La longitud superior de la cabeza supera el 40% de la longitud en cuanto a *Orestias agassi* con respecto a la longitud estándar (Sarmiento y Barrera, 2003). Además, la talla mínima para su captura es de 12 cm está prohibido comercializar pescados en tallas menores a lo mencionado (PRODUCE, 2010).



**Figura 1: Carachi amarillo (*Orestias luteus*)**

FUENTE: DIREPRO (2008)

### 2.2.2. Clasificación taxonómica del carachi amarillo (*Orestias luteus*)

Descripción taxonómica según Sarmiento citado por Valenzuela (2018)

PHYLLUM: Chordata  
 SUB PHYLLUM: Vetebrata  
 SUPERCLASE: Pisces  
 CLASE: Osteichthyes  
 SUB CLASE: Actinopterygii  
 SUPER ORDEN: Teleostei  
 ORDEN: Ciprinodontiformes  
 FAMILIA: Ciprinodontidae  
 SUB FAMILIA: Cyprinodontinae  
 GENERO: *Orestias*  
 ESPECIE: *Orestias luteus*  
 Nombre vulgar: “carachi amarillo”

### 2.2.3. Especies nativos de la cuenca del lago Titicaca

Las peces ícticas que viven en la cuenca del lago Titicaca se clasifican en dos categorías: *Orestias* “carachis” se tienen registrados 23 especies diferentes, *Trichomycterus* “suche” y “mauri”, que son dos especies distintas, desde la introducción de la trucha en 1941, la población de ambas especies ha disminuido lentamente, llegando incluso al riesgo de extinguirse como algunas de ellas: *Orestias cuvieri* “umanto”, *Orestias tutini*, *Orestias incae*, *Orestias.uruni*, *Orestias taquiri*, etc.; mientras que la “boga”, el “suche” y otras especies, se encuentran en peligro de extinción (DIREPRO, 2008).

### 2.2.4. Composición química

**Tabla 1: Composición química nutricional del carachi amarillo (*Orestias luteus*)**

Composición química nutricional	Porcentaje proximal
Grasa	1.5
Proteína	17
Ceniza	2
Carbohidratos	0.5

FUENTE: CIDAB (2002)

### 2.2.5. Distribución geográfica

Se expande desde la región de Ancash, en el norte del Perú, hasta Antofagasta en Chile con una altitud entre 09° a 22° Latitud Sur. Estos peces son endémicos más de la mitad de las especies están en los lagos y corrientes de los Andes del Perú, Bolivia y Chile. La mayoría de las especies se encuentran en el lago que están en las dos secciones más pequeñas (lago menor y bahía de Puno), a un que no se sabe aún si estas representan la verdadera distribución del carachi en el lago (Qollasuyo, 2003).

Los lagos: Titicaca (Perú Bolivia), Junín (Perú) y Poopo (Bolivia), se encuentran a mayores densidades, en las zonas más altas de los ríos, que pueden encontrarse en altitudes que alcanzan los 4299 metros sobre el nivel del mar. También, pueden habitar en riachuelos y charcos con poca profundidad y bajo contenido de oxígeno. En 1979 se descubrió *Orestias* en 3 reducidos lagos al Noreste de Lima, lo que reveló que no solo la presencia de 2 nuevas

especies, los *Orestias* se pueden encontrar también en muchos lagos cortos en el sur de los Andes ecuatorianos Parenti citado por Atencio (2013).

#### **2.2.6. Pesquería del recurso**

Alrededor del lago Titicaca la actividad pesquera es permanente y es una fuente importante de alimento y sustento económico para los habitantes que viven cerca de sus alrededores. Sin embargo, en los últimos años ha habido una disminución en la población de ciertas especies de peces nativos, como el Carachi amarillo, debido principalmente a la práctica excesiva de pesca en las áreas cercanas a la orilla (Chura y Mollocondo, 2009).

Por otro lado, el proyecto especial binacional lago Titicaca (PELT), busca repoblar el Carachi amarillo y al mismo tiempo, adquirir conocimientos y gestionar de manera integral la biodiversidad de la cuenca del lago Titicaca, con el objetivo de promover y llevar a cabo su uso sostenible dentro del proceso de integración fronteriza y los acuerdos firmados entre Perú y Bolivia (PELT, 2019).

#### **2.2.7. Producción pesquera**

En el mes de enero, hubo un aumento en la producción del sector pesquero de 31.5 por ciento, respecto a enero del año anterior, el resultado del incremento en la producción de Trucha que es criada en jaulas flotantes experimentó un incremento del 31.5 por ciento con respecto al año anterior. Este aumento significativo ha sido determinante para el comportamiento del sector pesquero, ya que representó aproximadamente el 99.9 por ciento del Valor Bruto de Producción (VBP). En cuanto a otras especies, se observaron incrementos en 41.5 por ciento de la pesca corresponde a ispi, seguido por el 38.9 por ciento de mauri, el 21.6 por ciento de carachi y el 2.7 por ciento de Trucha natural (BCRP, 2022).

**Tabla 2: Región Puno producción pesquera I/ (En TM)**

	ENERO		
	2021	2022	Var%
<b>Consumo Humano Directo</b>	2939,3	3864,2	31,5
Boga	0,0	0,0	-
Carachi	3,0	3,7	21,6
Ispi	1,4	1,9	41,5
Suche	0,0	0,0	-
Mauri	0,1	0,1	38,9
Pejerrey	2,2	2,2	-1,3
Trucha natural	2,1	2,1	2,7
Trucha crianza	2930,6	3854,1	31,5

FUENTE: BCRP (2022)

## 2.3. ESCAMAS DE PESCADO

### 2.3.1. Generalidades

Estos son: "placas duras y flexibles con muchas líneas concéntricas y marcas en forma de surcos enraizados que se superponen como tejas" formaban el exoesqueleto del pez. Las escamas son estructuras óseas y planas endometriales laminares de origen dérmico, están rodeados por un tejido conectivo fibroso derivado del exoesqueleto de ostracodermos primitivos y peces placodermos. Los bordes de la escama están constantemente creciendo debido a la actividad de los osteoblastos, que cubren tanto la superficie interna como externa con una placa (Miranda y Escala, 2002).

### 2.3.2. Composición química

Diversos autores describen a la escama de pescado, como un residuo altamente proteico, la escama en su estado natural como después de ser procesada contiene sustancias inorgánicas como carbonato de calcio y fosfato de calcio que viene a ser hidroxapatita, que también

pueden ser usados en la alimentación de los animales, ya que las escamas presentan un 10% de fosforo y 40% de calcio ( Gomez y Benitez, 2011).

Según la FAO en el 2013 las escamas tienen una composición altamente nutricional y son un alimento funcional debido a sus componentes vitamínicos, minerales y principalmente proteico. El magnesio, el calcio y las calorías son los principales componentes que poseen las escamas (Basualdo y Delgado, 2019).

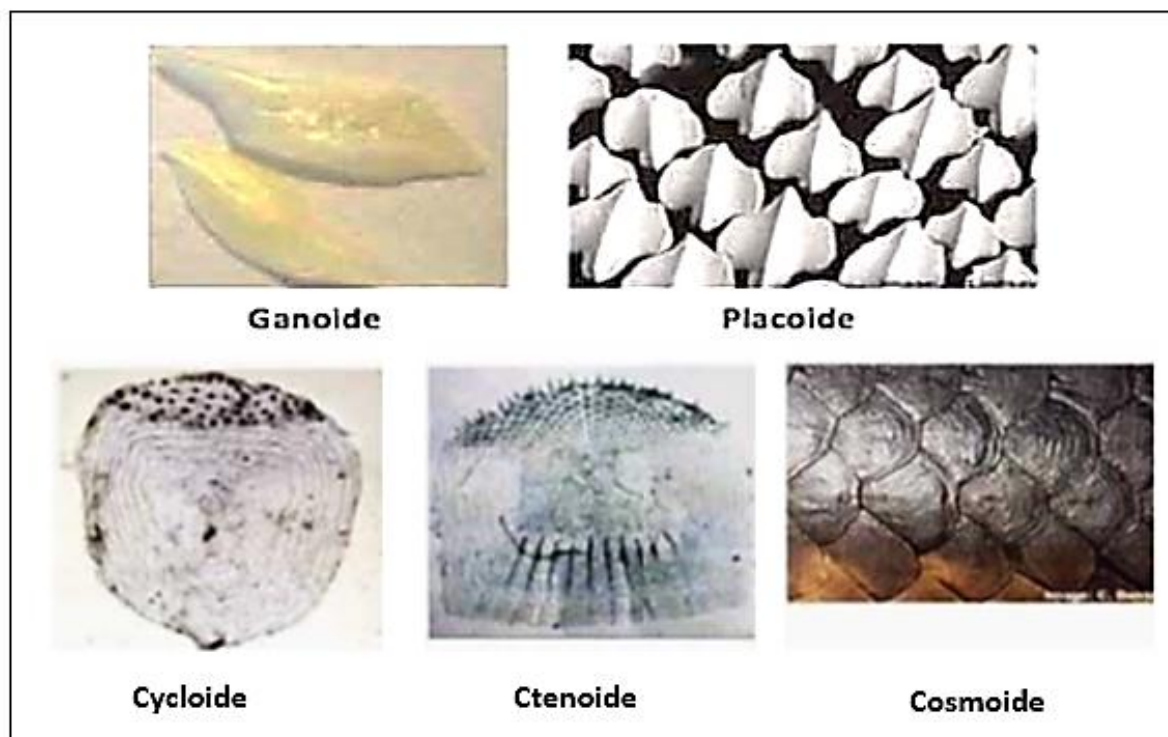
**Tabla 3: Composición química proximal de escamas de Tilapia y Lisa**

Composición	Unidades	Escamas de tilapia		Escamas de lisa	
Humedad	%	15.18	± 0.27	54.84	± 0.34
Cenizas	%	32.08	± 0.23	21.21	± 0.12
Proteína	%	67.96	± 0.19	23.26	± 0.19

FUENTE: Quintero y Zapana (2016), Basualdo y Delgado ( 2019)

### 2.3.3. Tipos de escama

Las escamas pueden ser de varios tipos como se muestra en la (Figura 2) tales como, por ejemplo: Placoides en raya y tiburones; ganoides si se disponen a modo de baldosas, las escamas cicloídeas se encuentran en peces como la trucha, sardinas, salmones, anchovetas y pejerrey, estas escamas son laminas delgadas y con anillos céntricos. Por otro lado, las escamas ctenoídeas son característicos de la especie del orden perciformes que reportan un superficie expuesta con pequeñas espinas (Ruiz, 2013).



**Figura 2: Principales tipos de escamas de peces**

FUENTE: Pérez y García (2009)

**a) Placoides**

Las escamas llamadas placoides o dentículos ("dentículo" se traduce como "diente pequeño") dérmicos se encuentran en los peces cartilagosos, como las rayas y tiburones, las escamas placoides se encuentran en los peces cartilagosos como tiburones y rayas, excepto en los peces quimeras, estructuralmente, estas escamas son similares a los dientes de los vertebrados. Tienen una dentina en forma de cono que rodea una pulpa dentaria central que contiene vasos sanguíneos. Estas escamas están ubicadas en una placa basal rectangular que descansa en la dermis. A medida que el pez crece, las escamas no pueden crecer un tamaño, sino que se agregan nuevas escamas (Quintero y Zapana, 2016).

**b) Cosmoides**

Las escamas cosmoide están en los sarcopterigios como los celacantos y peces pulmonados, tienen una estructura ósea compuesta por una capa densa de huesos laminar llamada isopedina, sobre la cual se encuentra una capa de huesos esponjoso con vasos sanguíneos. Estas capas esta protegidas por una sustancia parecida a la dentina conocida como cosmina y además cuenta con un recubrimiento externo superficial de vitrodentina (Sharpe, 2001).

### **c) Ganoides**

Las escamas de tipo ganoide están en peces esturiones, peces espátula, peces lagartos, peces bicheres y peces amias calva. Tienen escamas cosmoides modificados con una capa de dentina en lugar de cosmina y están cubiertos por una capa de sal inorgánica llamada ganoína en lugar de vitrodentina. La mayoría de ellos tienen forma de diamante y están unidos por articulaciones de tipo clavija y zócalo (Mathews *et al.*, 2002).

### **d) Cicloides y ctenoides**

Estos tipos de escamas están en los peces teleósteos, que tienen espina ósea en sus aletas, las escamas cicloides tienen bordes suaves, mientras que las escamas ctenoides tienen diminutos dientes en el borde posterior llamados ctenii, que le dan una textura áspera similar a un peine. Estas escamas están compuestas principalmente por una capa superficial de hidroxiapatita y carbonato de calcio y una capa más profunda compuesta en su mayoría por colágeno. A diferencia de otros tipos de escamas, las escamas ctenoides tienen crestas superficiales y ctenii más prominentes además, los peces actinopterigios tienen escamas ctenoides (Pérez y García, 2009).

#### **2.3.4. Aplicación de las escamas de pescado en la industria**

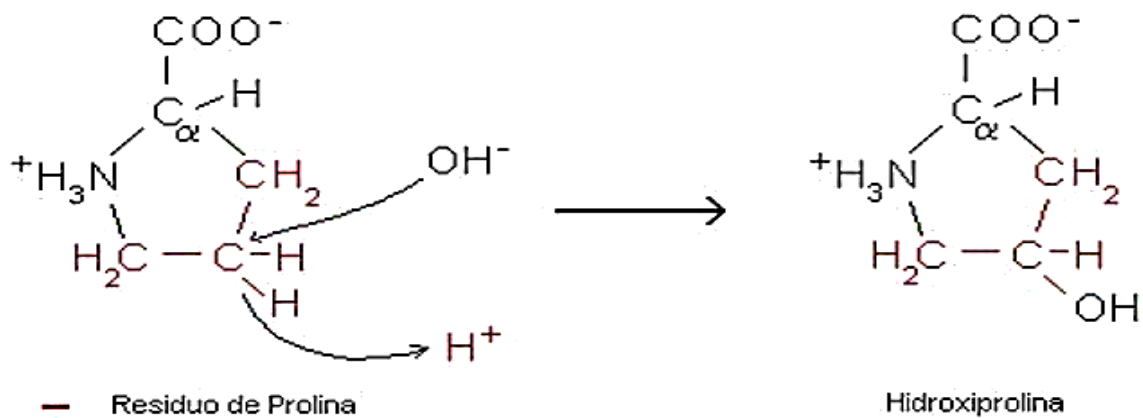
Las escamas de pescado no se utilizan a gran escala en la industria alimentaria, se usan para alimentar a los animales, como las codornices en la granja avícolas. Estos productores de avícolas incorporan escamas de pescado en polvo en la comida de las codornices para mejorar la calidad de sus huevos (Pérez y García, 2009).

## **2.4. PROTEÍNAS**

Las proteínas son moléculas complejas tienen diversas funciones en los seres vivos y están formadas por uno o más aminoácidos, que se pueden encontrar en células animales como en células vegetales (McKee, 2014). En la nutrición, las proteínas son esenciales porque suministran nitrógeno y aminoácidos que se pueden usar para crear proteínas y otras sustancias nitrogenadas (Gávez *et al.*, 2013).

La proteína está compuesta por polímeros de  $\alpha$ -aminoácidos que se unen para formarlas. Uno de los aminoácidos de especial interés es la prolina, que es un aminoácido cíclico y comparte características similares a los aminoácidos como la alanina y la glicina. Además, las prolinas tienen la capacidad de sufrir modificaciones químicas en su ensamblado en las

proteínas, transformándose en 4-hidroxiprolina, como se muestra en la figura 3 (Mathews *et al.*, 2002).



**Figura 3: Formula estructural de la prolina e hidroxiprolina**

FUENTE: Mathews *et al.* (2002)

La cadena de aminoácidos interactúa con los otros aminoácidos a medida que se une, creando puentes de hidrógeno entre el hidrógeno del amino de un aminoácido y el oxígeno del carboxilo de otro. Como resultado de estas uniones, la cadena polipeptídica se pliega y adopta dos configuraciones espaciales que forman la estructura secundaria de una proteína. Estas configuraciones se conocen como  $\alpha$ -hélice y  $\beta$ -hoja plegada. La  $\alpha$ -hélice se identifica por tener una estructura geométrica en espiral, está estructurado en cada vuelta por 3,6 aminoácidos, esta hélice se conserva por puentes de hidrogeno del grupo amino de enlaces peptídicos de un aminoácido y oxígeno del grupo carboxilo del cuarto residual dentro del grupo se puede encontrar las proteínas como el colágeno, la elastina y queratina (Mathews *et al.*, 2002).

Se encontró pruebas que indican que los grupos hidroxilo presentes en los residuos de hidroxiprolina desempeñan un papel importante en la estabilidad de la triple hélice del colágeno y en la formación de enlaces de hidrogeno entre las distintas cadenas. A si como cuando la hidroxilación de la prolina se ve inhibida, como ocurre en casos de deficiencia de vitamina c, se dificulta la formación de las hélices de colágeno. Además, cuando el colágeno se sintetiza en condiciones que inhiben la función de la prolil hidroxilasa, pierde su estructura nativa, es decir, se desnaturaliza a una temperatura de 24 °C, mientras que el colágeno normal

se desnaturaliza a una temperatura de 39 °C. Esto significa que, a temperatura corporal normal, no se puede formar la triple hélice correctamente (de Paz, 2006).

#### **2.4.1. Proteínas estructurales**

La actina y la miosina son las principales proteínas del colágeno, que corresponden el 75 al 85% de su composición. En mamíferos de la misma categoría, su composición disminuye al 41%. Además, son solubles en diversas soluciones básicas de fuerza iónica mayor (0,5 M). Debido a que la miosina y la actina se encuentran dentro del ciclo de relación y contracción del músculo, las células musculares son miofibrilares (Vela, 2013).

#### **2.4.2. Proteínas sarcoplasmáticas**

La mioalbúmina, globulina y enzimas son proteínas sarcoplasmáticas, en soluciones salinas neutra de baja fuerza iónica (0.15M) son solubles, constituye el 25-30% del total de proteínas, según la FAO, contienen cerca del 15-25% de todas las proteínas presentes en el músculo de animales que viven en el agua. En los peces pelágicos tienden coagularse al calentarlos con agua a temperaturas mayores de 50 °C, por ejemplo, a 90 °C durante 10 minutos, solo el 65-75% de la proteína sarcoplasmática de los peces marítimos se coagulan por el calor, las parvalbuminas de masa molecular 12KDa estas se mantiene solubles a 70 °C o más, de los peces de mar profundo las proteínas son poco estables (Vela, 2013).

#### **2.4.3. Proteínas del tejido conectivo**

El colágeno se encuentra de manera predominante en el tejido conjuntivo del músculo y también se encuentra presente en la piel y los huesos, su función es mantener las fibras musculares unidas (Cheftel *et al.*, 1976). El otro componente de interés del tejido conjuntivo es la elastina, que se encuentra en las paredes de las arterias y los ligamentos de las vértebras (Cheftel *et al.*, 1976). El porcentaje de estas proteínas en teleósteos es de alrededor del 3%, en elasmobranquios es de aproximadamente el 10% y en mamíferos se muestra en un 17% (FAO, 1998). Los tejidos conjuntivos o conectivos están mayormente ubicados en la matriz extracelular, y están compuestos por células vivas en menor cantidad y una sustancia amorfa que contiene carbohidratos, lípidos y otras proteínas (Vela, 2013).

## **2.5. COLÁGENO**

### **2.5.1. Generalidades**

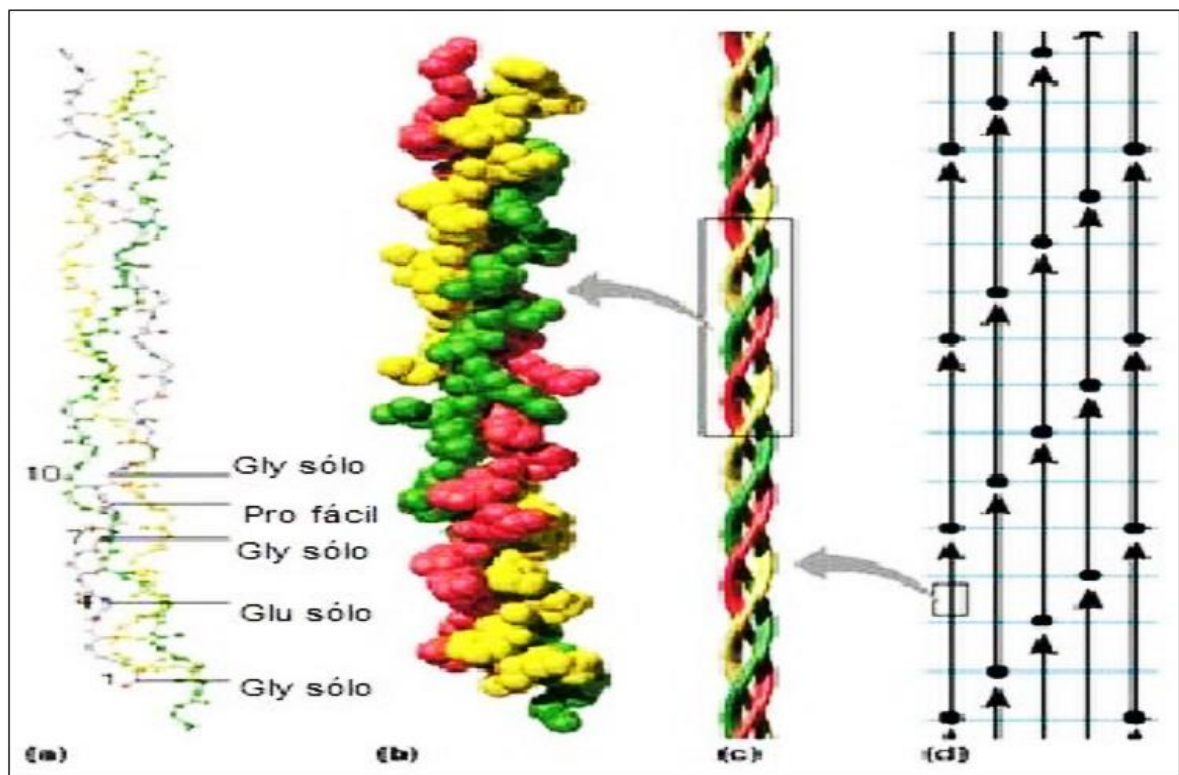
El colágeno es una proteína que proviene de la matriz extracelular de los tejidos animales. Puede representar hasta el 30% de las proteínas de un mamífero. Cada molécula de colágeno está constituida por tres cadenas polipeptídicas llamadas cadenas  $\alpha$ , que forman una triple hélice. Cada cadena tiene una secuencia de aminoácidos repetitiva (XY), con los aminoácidos más frecuentes siendo prolina e hidroxiprolina. Además, se estructura de tal manera que entre cada dos aminoácidos se ubica una glicina (XY-glicina). A medida que envejecemos, la integridad y elasticidad de los tejidos disminuyen debido a la reducción en la síntesis de colágeno y el aumento de su descomposición. Esto se debe a la desregulación de las enzimas proteasas y la mineralización anormal de la matriz extracelular, el colágeno desempeña un papel importante en proporcionar estabilidad y resistencia a los tejidos, pero con el envejecimiento, se produce una disminución en su producción y un aumento en su desgaste, lo que afecta la integridad de los tejidos (Ricard-Blum, 2011).

Las proteínas más numerosas en la matriz extracelular son las que integran a la familia del colágeno. Primero se sintetiza el colágeno como su molécula precursora, pro colágeno. Estas cadenas polipeptídicas sufren los cambios necesarios para formar los diferentes tipos de colágeno que existen. La hidroxilación de la prolina es el proceso que garantiza el correcto ensamblaje del procolágeno y la termo estabilidad de las proteínas. Luego, la hidroxilación de la prolina garantiza la unión entre las moléculas de colágeno al permitir el entrecruzamiento de múltiples triple hélices. La vitamina C regula todos estos procesos, por lo que su falta afecta todos los tejidos (Gelse *et al.*, 2003).

### **2.5.2. Estructura del colágeno**

La unidad fundamental de la fibra de colágeno es la molécula de tropocolágeno, que es una hélice triple de tres cadenas polipeptídicas con alrededor de mil residuos, como se muestra en la Figura 4. Las cadenas individuales son hélices orientadas a la izquierda, con alrededor de 3,3 residuos por vuelta. Tres de las cadenas están enrolladas uno alrededor de los otros hacia la derecha, con enlaces de hidrógeno entre ellas (de Paz, 2006).

Según el análisis del modelo, solo la glicina puede ser el tercer desecho, que debe encontrarse cerca del centro de la hélice triple. La formación de hélices individuales del tipo colágeno también es favorecida por la presencia de prolina o hidroxiprolina en la molécula de tropocolágeno, ya que cualquier cadena lateral distinta de glicina (Gly) sería demasiado larga. Para realizar adecuadamente sus múltiples funciones, el colágeno presenta una amplia gama de variantes genéticas en los organismos superiores. Un conjunto que se repite en la secuencia es Gly-X-Y, donde X suele ser prolina e Y prolina o hidroxiprolina (Mathews *et al.*, 2002).



**Figura 4: Representación esquemática de la molécula del colágeno**

FUENTE: Mathews *et al.* (2002)

En la figura se puede observar: a) la forma de triplete que se encuentra en las estructuras colágenas, b) moléculas de colágeno, c) estructura en forma de triple hélice, d) muestra la disposición pentafibrilar del cuarto alternado, donde cada flecha representa una molécula de tropocolágeno.

### 2.5.3. Tipos

Existen 28 tipos diferentes de colágeno en los seres humanos y representan el 25% de las proteínas totales y se ha identificado la presencia de 42 genes que codifican las cadenas de esta proteína. Algunos de los tipos más comunes forman fibrillas, mientras que otros crean redes extensas o desempeñan funciones más especializadas (Meisenberg y Simmons, 2019).

Los colágenos pueden ser categorizados en dos tipos; fibrilares y no fibrilares. Se distingue a los colágenos no fibrilares por la presencia de grandes unidades globulares en sus monómeros, lo cual resulta en una autoorganización más compleja de las estructuras formadas en comparación con el colágeno fibrilar, que se encuentra dispuesto de manera más común (de Paz, 2006).

**Tabla 4: Tipos de colágeno**

TIPO	TEJIDO	FORMA
Tipo I	Hueso, piel, tendón	Fibrilar
Tipo II	Cartílago, Disco	Fibrilar
Tipo III	Piel, Tendón. Sanguíneos	Fibrilar
Tipo IV	Lamina Basal	Red Tridimensional
Tipo V	Con tipo I	Fibrilar
Tipo VI	Extendido	Microfilamentos
Tipo VII	Membrana Epitelial	Inserción Fibrilar
Tipo VIII	Membrana Endotelial	Desconocida
Tipo IX	Cartílago	Enlace Cruzado
Tipo X	Cartílago Hipertrófico	Desconocida
Tipo XI	Con Tipo I	Fibrilar
Tipo XII	Tendón	Desconocida
Tipo XIII	Células Endoteliales	Desconocida

FUENTE: Karim y Bhat (2009)

#### 2.5.4. Composición fisicoquímica del colágeno

En la tabla 5, muestra la composición química esperados del colágeno obtenidos a partir de los residuos de anchoveta y composiciones química de colágeno extraído a partir de escamas de pescado de lisa.

**Tabla 5: Composición química proximales del colágeno**

Componente	Unidades	Residuos anchoveta	Escamas de pescado de lisa
Humedad	%	8,0 ± 2,8	97
Ceniza	%	0,7 ± 0,02	0.9
Proteína	%	87,6 ± 3,9	1.80

FUENTE: Cardenas (2019); Solari y Córdova (2015)

#### 2.5.5. Uso del colágeno

Gracias a sus propiedades químicas distintivas que presenta el colágeno, es usado en distintos campos de la industria (Bae *et al.*, 2008), las cuales se utilizan en materiales biomédicos, farmacéuticos, cosméticos y alimenticios (Potaros *et al.*, 2009). En la industria farmacéutica y cosmética es de gran importancia, por que contienen gran cantidad de proteína que se utiliza en prevención y tratamiento de las arrugas, por otro lado, se realizan parches para cubrir las heridas y elaboración de medicamentos con principios activos liberados. A partir de los 25 años de edad, el cuerpo humano pierde colágeno, lo que nos muestra signos de envejecimiento. Para reducir estos efectos se han creado diversos productos a base de colágeno para detener el proceso, creando productos como geles, cremas y mascarillas, así como inyecciones para vías subcutáneas que se administran sobre la piel (Bitar *et al.*, 2007).

También existen otras aplicaciones en la industria alimentaria, en el mercado japones, se han introducido diversos productos como bebidas refrescantes, aditivos para todo tipo de bebidas y galletas., con el objetivo de prevenir y disminuir los signos de envejecimiento y facilitar el consumo del colágeno y que sean agradable. La mayoría de las compañías que producen estos productos son de Japón y España. Algunos ejemplos incluyen el refresco "C1000

Vitamin Lemon collagen" fabricado por House Wellness Foods Corporations, el cual es una bebida efervescente rica en vitamina C y colágeno, contiene 1000 mg de colágeno y vitamina C, así como un 10% de jugo de limón en una botella de 140 ml (Schoof *et al.*, 2001).

A medida que envejecemos, la producción de colágeno disminuye, lo que afecta a la integridad estructural de los tejidos conectivos en el cuerpo y aumenta la necesidad de complementos alimenticios, en este sentido hubo interés en la aplicación del colágeno en suplementos nutricionales como; yogurt, embutidos, jugos, postres, jaleas, budines, etc. Los alimentos enriquecidos con colágeno mencionados anteriormente se pueden utilizar para incrementar la flexibilidad y tonicidad cutánea, además prevenir afecciones como la artritis, la osteoporosis, la hipertensión arterial y las úlceras gástricas (Ferreira y Barretto, 2012).

Esta proteína extraída ha sido utilizada para el tratamiento de arrugas y prevención, a su vez se usa en el desarrollo de fármacos para liberar sus principios activos en productos antienvjecimiento, destacan cremas, geles, emulsiones y mascarillas e inyecciones subcutáneas directamente sobre la piel. Asimismo, esta proteína se ha utilizado con el objetivo de desarrollar una línea de productos destinados a mejorar la salud capilar, tales como champús, acondicionadores y tratamientos capilares (Torre, 2013).

#### **2.5.6. Métodos de extracción del colágeno**

- **Por hidrólisis acida**

Este método implica ebullición prolongada de la proteína con soluciones de ácido fuerte como ácido clorhídrico y ácido sulfúrico. Este método destruye el triptófano, así como parte de la serina y la treonina (Núñez, 2011).

- **Por hidrólisis alcalina**

La descomposición alcalina se lleva a cabo típicamente usando hidróxido de sodio, calcio y amonio como agentes de descomposición de aminoácidos. Durante este proceso, los aminoácidos como la arginina y tirosina se destruyen parcialmente y se forman fácilmente una mezcla de dos compuestos químicos (Núñez, 2011).

- **Hidrólisis enzimática**

Emplean enzimas elaboradas para romper enlaces particulares de la molécula, lo que da lugar a colágeno hidrolizado sin residuos de sustancias resultantes de la hidrólisis (sales) y con un

peso molecular menor que antes, sin generar compuestos que afecten el sabor, color y olor de las soluciones (Quispe y Gutierrez, 2019).

## **2.6. FUERZA GEL**

La fuerza de un gel se sostiene en una medición basada en su fuerza cohesiva que posee, las fuerzas cohesivas de la película, en su mayoría para determinar los parámetros distintivos de la gelatina, de tal forma dando valores medidos en gr/cm al cuadrado o en grados Bloom, el rango empíricamente observado muestra que la concentración de gelatina varía desde los 30 hasta los 500 gB. Este rango se relaciona principalmente con la preparación de disoluciones de gelatina, ya que aquellas disoluciones que tienen una mayor fuerza gel requieren una concentración de gel más alta para lograr una cohesión adecuada (Bailach *et al.*, 2011).

La gelatina con un alto bloom tiene ventajas en función de su alto punto de función y solidificación, ya que necesita una menor concentración de estas, lo que las hace más ligeras, con un mejor color y sabor (Sousa, 2010). El precio de la gelatina en el mercado se determina principalmente por la cantidad de gel que tiene, ya que, a mayor fortaleza del gel, mayor será su valor comercial. Los valores usuales de viscosidad para el gel varían entre 1.5 a 7.5 mPa/s. Estos valores se determinan al medir el movimiento de una disolución de gelatina al 6,67% utilizando un viscosímetro a una temperatura de 60°C. Sin embargo, existe un problema con las disoluciones de gelatina que tienen una viscosidad alta, ya que son muy frágiles y delicadas (Romero, 2016). Las gelatinas extraídas de pescados lograrán alcanzar valores de fuerza gel de 229 y 426 gramos, mientras que los valores de fuerza gel del ganado ovino son de 200 a 300 gramos (Muyonga *et al.*, 2004).

## **2.7. HIDROXIPROLINA EN EL COLÁGENO**

La hidroxiprolina y la hidroxilisina no se encuentran en proteínas que no formen parte de los colágenos o sus derivados (Bailach *et al.*, 2011). La hidroxiprolina, un aminoácido distintivo del colágeno, permite su estimación cercana en el tejido conectivo, multiplicando la cantidad de hidroxiprolina obtenida por un factor variable según el tipo de colágeno (Braña *et al.*, 2011). En tabla 6, se muestra valores del contenido hidroxiprolina de colágenos de distintas especies y diferentes residuos.

**Tabla 6: Cantidad de hidroxiprolina en colágenos obtenidos de diferentes especies**

<b>Origen</b>	<b>Hidroxiprolina (%)</b>	<b>Autor</b>
Colágeno de escamas de tilapia	0.23	Quintero y Zapana (2016)
Colágeno de residuos de trucha	8.05	Quispe y Gutierrez (2019)
Colágeno de aletas de calamar	2.15	Torres <i>et al.</i> ( 2008)
Colágeno de bovino	8.05	M. D. Mamani (2018)

### **Método de cuantificación de hidroxiprolina**

- **Hidrolisis**

Se deben pesar muestras repetir dos veces de aproximadamente 4 g en matraces con una precisión de 0.001 g. Es importante que la muestra no se pegue a las paredes laterales del matraz. Luego, se deben agregar 30 ml de ácido sulfúrico a cada matraz, cubrirlos y colocarlos a una temperatura de  $105 \pm 1$  °C durante 16 horas. Después de este tiempo, se debe filtrar una parte del agua y mezclarla en un matraz de 100 ml. Lo filtrado resultante debe ser estable durante aproximadamente dos semanas a una temperatura de 4 °C, se debe diluir el filtrado con agua hasta que la hidroxiprolina baje su concentración en la dilución final esté en el rango de 0.5 a 2.4 µg/mL. Normalmente, la dilución de 5 ml a 100 ml es la más conveniente (Privalov, 1982).

- **Desarrollo y medición del color**

Se pipetea 2 ml la dilución final en el tubo de ensayo y pipetear en dos tubos 2 ml de agua ese será el blanco de la dilución final, a cada tubo de ensayo agregar 1 ml de solución oxidante, los tubos se agitará y luego hacer reposar durante 20 a 2 min a temperatura ambiente, a cada tubo de ensayo, agregar 1 ml de reactivo de color y remover bien cubrir cada tubo con su respectiva tapa, seguidamente colocar los tubos en agua a temperaturas de 60°C durante aproximadamente 15 min, se procede a disminuir la temperatura de los tubos con agua sumergiéndolos durante 3 minutos, medir la absorbancia de soluciones vs blancos en células de vidrio de 10 mm con fotómetro a 558 nm (Privalov, 1982).

- **Curva de calibración**

Realizar la curva de calibración correspondiente para cada conjunto de mediciones. Se transfiere 2 ml de solución patrón de trabajo a los tubos que están con las soluciones preparadas y continuar con el cálculo para la curva de calibración en eje y e hidroxiprolina (1.2, 2.4, 3.6 y 4.8 µg) en (1.2, 2.4, 3.6 y 4.8 µg) en el eje x (Privalov, 1982).

## **2.8. CONCEPTOS MICROBIOLÓGICOS**

### **2.8.1. Coliformes**

La presencia de bacterias coliformes en los alimentos no indica la presencia de bacterias intestinales o de heces; más bien, indica contaminación después del tratamiento térmico. Algunos coliformes, como *E. coli*, se encuentran con frecuencia en las heces de humanos y otros animales, mientras que otros, como *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* y *Erwinia*, se encuentran con frecuencia en el suelo, el agua y las semillas. Los recuentos de bacterias en la leche, las verduras, la carne, las aves y otros alimentos crudos son naturalmente bajos, por lo que tienen poco o ningún valor para monitorear y rastrear, el tratamiento térmico elimina fácilmente estos microorganismos, se debe considerar si la refrigeración posterior a la cocción ha sido inadecuada (ausencia o deficiencia) si el alimento ha sido sometido a un tratamiento térmico y ha obtenido un alto recuento de bacterias (ANMAT, 2006).

### **2.8.2. *Staphylococcus aureus***

Es un microorganismo capaz de causar intoxicaciones alimentarias graves dependiendo de la cantidad de alimento consumido (Martínez, 2005). La bacteria es una de las principales responsables de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), las cuales son provocadas por diversas acciones, entre ellas la capacidad de generar toxinas. Por lo tanto, las infecciones se producen al consumir alimentos contaminados con dichas toxinas (Doyle y Beuchat, 2007).

### **2.8.3. Mohos y levaduras**

Productos con una alta actividad de agua son susceptibles al deterioro causado por hongos y levaduras. Estos microorganismos poseen la capacidad de tolerar una alta presión osmótica, un bajo pH y a menudo pueden crecer en temperaturas de refrigeración. Aunque la cantidad mínima de benzoato de sodio y sorbato de potasio requerida para inhibir su crecimiento disminuye cuando la actividad del agua, el pH y la temperatura de incubación son reducidos,

algunas levaduras son excepcionalmente resistentes a estos conservantes (Ancasi *et al.*, 2006). A su vez indican que las levaduras tienen capacidad para soportar niveles de pH entre 3 y 4, pero su óptimo crecimiento se ve favorecido en un rango de pH de 4.5 a 6.5 (Suárez *et al.*, 2016).

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. ÁMBITOS DE ESTUDIO**

El trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio general de la Universidad Nacional de Juliaca e Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) Illpa - Salcedo, Puno

#### **3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA**

Las escamas extraídas del carachi amarillo (*Orestias luteus*) fue comprado de los comerciantes que expenden pescado extraídos del lago de Arapa, ubicado en el distrito de Arapa provincia de Azángaro, región Puno, para cada tratamiento se utilizó 120g de escamas de carachi amarillo.

#### **3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS**

##### **3.3.1. Materiales usados en el laboratorio**

- Varilla de vidrio
- Espátula
- Luna de reloj pírex
- Placa Petri de vidrio pírex
- Fiola de 250 ml y 25ml
- Pipeta volumétrica de 10 ml y 5 ml
- Probeta graduada de 100 y 50 ml
- Matraz Erlemmeyer de 250 ml
- Vasos precipitados de 250 ml y 600 ml
- Embudo de vidrio
- Pera decantadora
- Tubo de ensayo

- Pera de goma
- Mortero
- Frascos de polietileno
- Envases de plástico 2L
- Cuchillo
- Tabla de picar
- Pissetas
- Malla de plástico de 0.05 mm de diámetro
- Papel aluminio
- Papel toalla
- Toallita húmeda
- Tela para filtrar de 100 micras
- Soporte universal
- Vasos de plástico de 500 y 50 ml
- Botellas de vidrio ámbar de 300ml

### **3.3.2. Equipos e instrumentos**

- Balanza, marca NAHITA
- Estufa de marca Memmert
- Refrigeradora de marca coldex
- Baño María de marca NAHITA
- Termómetro
- pH meter Metrohm
- Espectrofotómetro UV-vis Genesis 20 Thermo Electron

### **3.3.3. Reactivos e insumos**

#### **a) Para la obtención de colágeno**

- Hipoclorito al cinco por ciento
- Agua destilada
- Hidróxido de sodio (0.26,0.3,0.4,0.5,0.54 M)
- Ácido acético (0.5 M)
- Escamas de carachi amarillo

## **b) Para determinación de hidroxiprolina**

- Ácido cítrico monohidratado
- Ácido sulfúrico (7 N)
- 2-propano
- 1- propanol
- Acetato de sodio
- Ácido perclórico
- Cloramina T thihidrato para análisis
- 4-(Dimetilamino) benzaldehido
- Trans-4-Hydroxy-L-proline  $\geq 99\%$

## **3.4. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### **3.4.1. Tipo de enfoque de investigación**

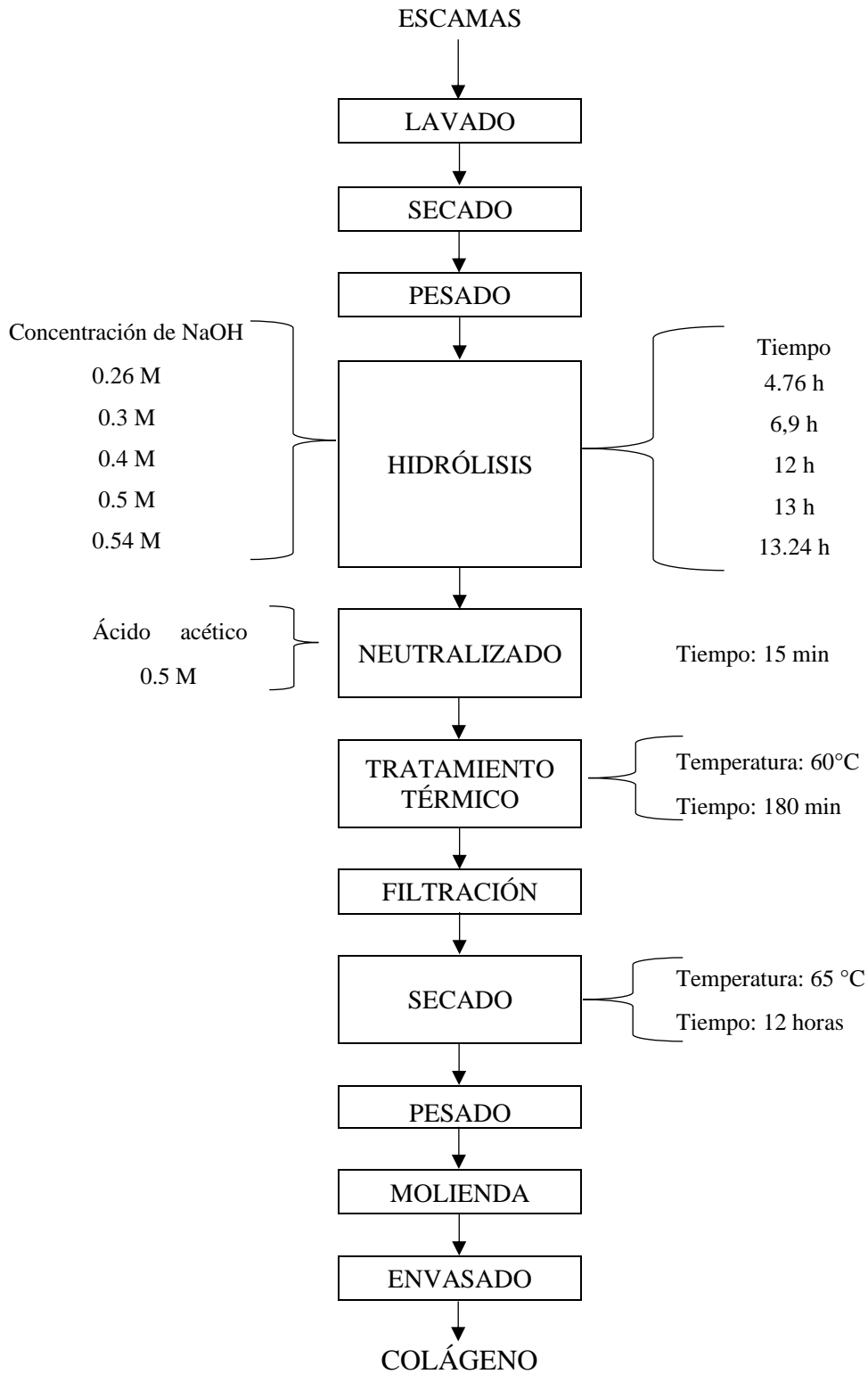
La investigación es cuantitativa por que se usó recopilación de datos para comprobar una hipótesis, utilizando mediciones numéricas de las variables en un contexto específico. A partir de estas mediciones, se realiza un análisis estadístico para identificar patrones de comportamiento y llegar a una serie de conclusiones (Hernández *et al.*, 2014).

### **3.4.2. Diseño de investigación**

El diseño de investigación es experimental, ya que implica la posibilidad de manipular una o más variables independientes, que se consideran como las causas o factores iniciales, con el fin de analizar las consecuencias que dicha manipulación tiene sobre la variable dependiente, es decir, el efecto o resultado esperado (Hernández *et al.*, 2014).

### 3.4.3. Diagrama de flujo

En la figura 5, se presenta el diagrama de flujo de las etapas para la obtención de colágeno a partir de las escamas de carachi amarillo.



**Figura 5: Diagrama de flujo para la extracción del colágeno**

## **Descripción del proceso**

### **Recepción de la materia prima:**

Las materias primas fueron analizadas organolépticamente, para ello se hizo uso de la tabla de criterios organolépticos (Anexo 1). Seguido a ello se procedió al retiró de las escamas del pescado con la ayuda de un cuchillo y de esa manera recolectamos las escamas de carachi amarillo, las cuales han sido transportadas en condiciones adecuadas en refrigeración a temperatura bajas con la finalidad de no deteriorar la proteína para la obtención de colágeno.

### **Lavado:**

El lavado de las escamas del pescado se realizó con agua a temperaturas de 13°C aproximadamente, para ello se utilizó el hipoclorito de sodio a 5 por ciento con agitación constante, seguidamente se realizó el lavado con abundante agua, con varias repeticiones, hasta que estén libre de impureza.

### **Secado:**

las escamas de carachi, se secó a temperatura ambiente a 23 horas aproximadamente.

### **Pesado:**

Pesamos las escamas en porciones de 120g, para cada tratamiento con la finalidad de poder obtener datos para en rendimiento final del colágeno.

### **Hidrólisis alcalina:**

En este proceso se mezcló las escamas de carachi amarillo con soluciones de hidróxido de sodio al (0.3 a 0.5 M), en proporciones de 1:3 durante un tiempo de (6 a 12 horas) para la hidrolización del colágeno, este procedimiento se desarrolló a temperatura ambiente, pasado el tiempo de hidrolizar drenamos con una malla de plástico de 0.05 mm de diámetro.

### **Neutralización:**

Posterior ala hidrólisis alcalino (NaOH), las escamas fueron mezclados con una solución de ácido acético al 0.5 M por un tiempo de 15 min en proporciones de 1:3, con agitación constante esto con la finalidad de bajar el pH, en seguida se lavó con abundante agua para poder eliminar los reactivos hasta llegar a un pH de 7, luego de ello se dreno con una malla de plástico de 0.05 mm de diámetro.

**Tratamiento térmico:**

En esta etapa las muestras de escama, se encontró a un pH de 7, en proporciones de 1:3 para ser sometidos a temperaturas constantes de 60 °C por un tiempo de 180 min.

**Filtración:**

Se realizó para separar la solución usadas y el residuo de escamas, se emplearon coladores de 0.05mm y posterior a ello con el fin de eliminar los residuos no colagénicas, se usó telas de 100 micras, obteniendo el colágeno húmedo.

**Secado del colágeno:**

El colágeno obtenido se llevó ha secado en una estufa a una temperatura de 65 °C en placas Petri de vidrio por un tiempo de 12 horas.

**Pesado:**

Las muestras de colágeno seco, se pesaron en una balanza, para poder evaluar el rendimiento.

**Molienda:**

Las láminas de colágeno obtenidas del secado, pasaron a reducir su tamaño, en un mortero.

**Envasado:**

Se envasaron en un frasco blanco de polietileno de alta densidad para que mantenga las características adecuadas.

### 3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

#### 3.5.1. Diseño Experimental

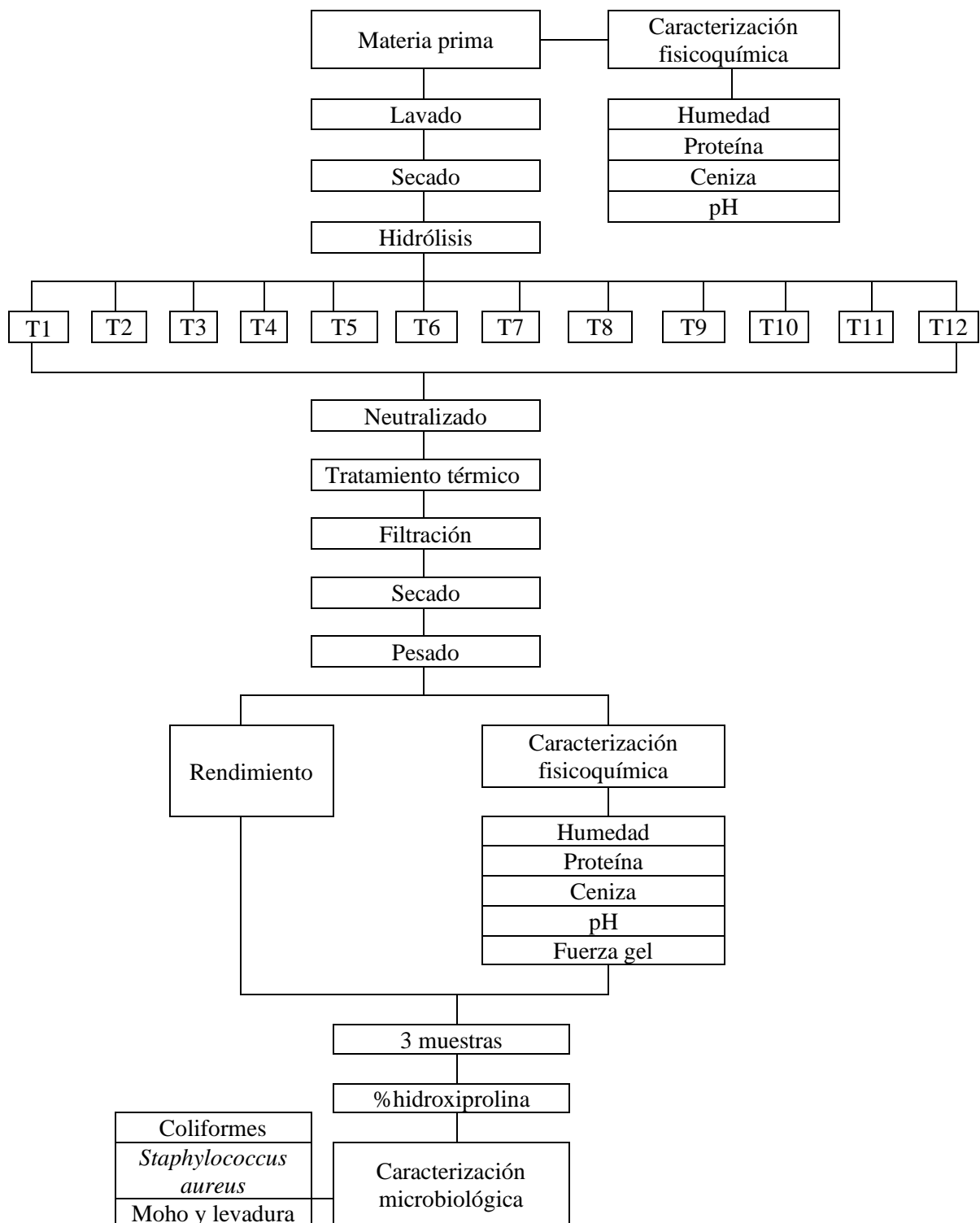


Figura 6: Diseño experimental de la extracción de colágeno

**Para el objetivo 1:** Determinar el rendimiento de colágeno extraído a diferentes tiempos y concentraciones de hidróxido de sodio.

**Variable independiente:**

- Concentración: Con un nivel alto de 0.5M y nivel bajo de 0.3M de NaOH.
- Tiempo: Con un nivel alto de 12 horas y nivel bajo de 6 horas.

**Variable dependiente:**

- Rendimiento

**Diseño estadístico:** Para la determinación del rendimiento adecuado del colágeno extraído, se condujo bajo un Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR) con dos factores de concentración y tiempo y cuatro puntos centrales, los datos fueron analizados con el software estadístico STHATGRAPHICS, las cuales se presenta en la siguiente tabla.

**Tabla 7: Matriz de diseño DCCR para el rendimiento**

Tratamiento	Concentración de NaOH (M)	Tiempo (Horas)	Rendimiento (%)
T1	0.30	6.00	-
T2	0.50	6.00	-
T3	0.30	12.00	-
T4	0.50	12.00	-
T5	0.26	9.00	-
T6	0.54	9.00	-
T7	0.40	4.76	-
T8	0.40	13.24	-
T9	0.40	9.00	-
T10	0.40	9.00	-
T11	0.40	9.00	-
T12	0.40	9.00	-

- **Determinación del rendimiento**

El rendimiento del colágeno extraído a partir de escamas de carachi se calculó utilizando el método de (Shyni *et al.*, 2014). Este método se establece en el peso del producto final del colágeno con respecto al peso inicial de la materia prima (escamas secas).

$$\text{Rendimiento del colágeno (\%)} = \frac{\text{Peso del colágeno seco}}{\text{peso de la escama seca}} * 100$$

**Para el objetivo 2:** Evaluar las características fisicoquímicas del colágeno obtenidos a diferentes tiempos y concentraciones de hidróxido de sodio.

**Variable independiente:**

- Concentración: Con un nivel alto de 0.5M y nivel bajo de 0.3M de NaOH.
- Tiempo: Con un nivel alto de 12 horas y nivel bajo de 6 horas.

**Variable dependiente:**

- Fuerza gel
- pH
- Humedad
- Ceniza
- Proteína

**Diseño estadístico:** Para la caracterización fisicoquímica del colágeno extraído, se condujo bajo un Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR) con dos factores de concentración y tiempo y cuatro puntos centrales, los datos fueron analizados con el software estadístico STHATGRAPHICS, las cuales se presenta en la siguiente tabla.

**Tabla 8: Matriz de diseño DCCR para la caracterización fisicoquímica**

Tratamiento	Concentración de NaOH (M)	Tiempo (Horas)	Fuerza gel (g/cm <sup>2</sup> )	pH	Humedad (%)	Ceniza (%)	Proteína (%)
T1	0.30	6.00	-	-	-	-	-
T2	0.50	6.00	-	-	-	-	-
T3	0.30	12.00	-	-	-	-	-
T4	0.50	12.00	-	-	-	-	-
T5	0.26	9.00	-	-	-	-	-
T6	0.54	9.00	-	-	-	-	-
T7	0.40	4.76	-	-	-	-	-
T8	0.40	13.24	-	-	-	-	-
T9	0.40	9.00	-	-	-	-	-
T10	0.40	9.00	-	-	-	-	-
T11	0.40	9.00	-	-	-	-	-
T12	0.40	9.00	-	-	-	-	-

**Métodos de análisis:**

- **Humedad :** Metodología sugerido por la A.O.A.C. 2005 (Anexo 5)
- **Cenizas:** Metodología sugerido por la A.O.A.C. 2005 (Anexo 5)
- **Proteína:** Metodología de kjeldahl (Anexo 5)
- **Determinación de pH según la metodología de la ISO 1842:1991**

**Calibración del pH-metro:** Primeramente, se calibro el medidor de pH usando una solución tampón a una temperatura de 12 °C, esto para poder tener una precisión mínima de 0.05 unidades de pH.

**Procedimiento:** Se prepararon la muestra líquida bien homogenizada a una temperatura donde este homogenizada, para la cual se utilizó un volumen suficientemente adecuado para poder sumergir los electrodos del equipo a la muestra, se observó un valor de pH constante, esto se realizó con replicas para cada muestra.

- **Determinación de fuerza gel**

Para el análisis de la fuerza gel, se ha construido un gelómetro, cuyo principio fue explicado por Gordillo (1973) citado por Barrenechea (2019), adaptándole a las comodidades disponibles que fue encontrado en el laboratorio y cuyo diseño se muestra en la figura 7, la descripción que se siguió se detalla a continuación.

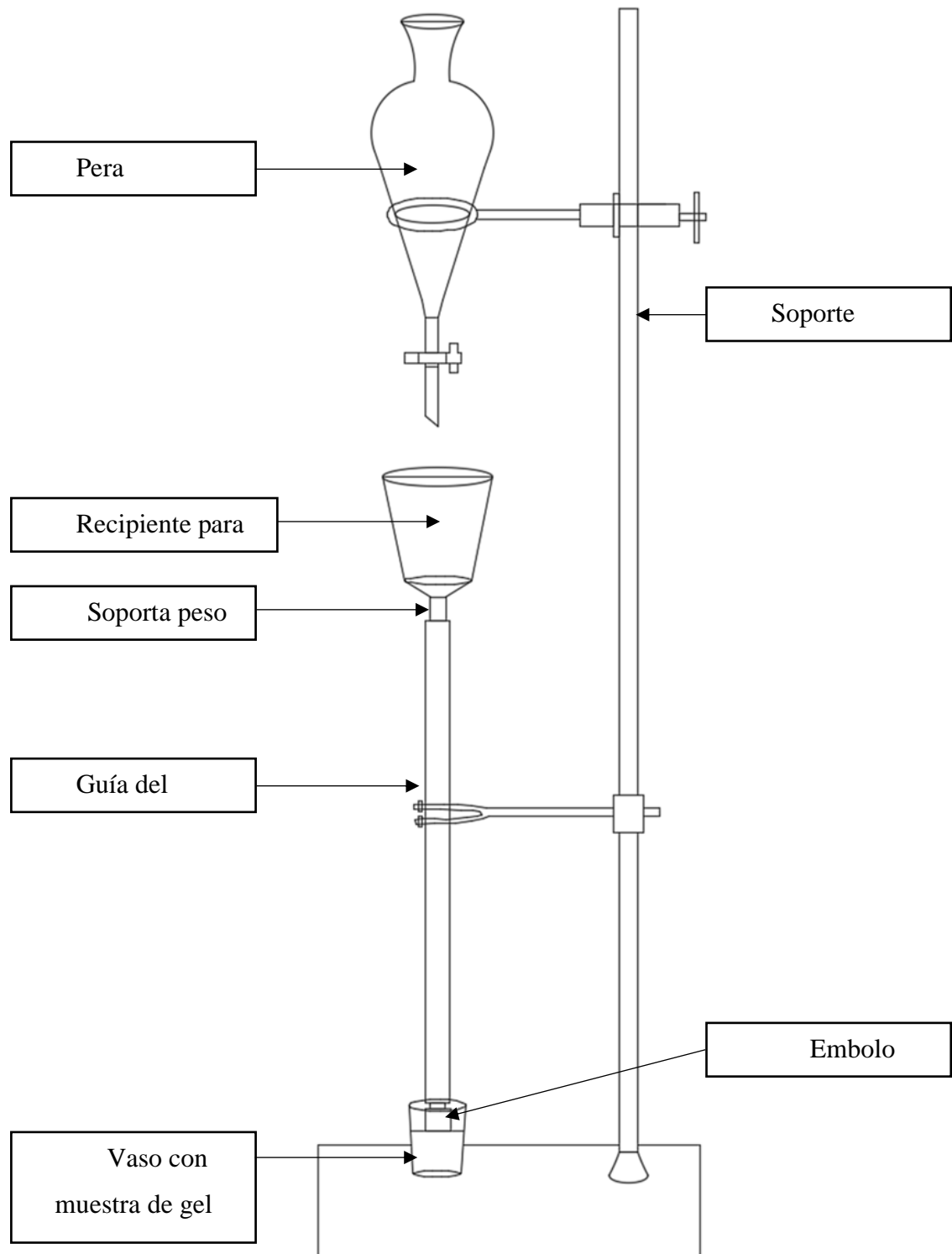
**Embolo y soporta pesos:** Se implemento con un tubo de plástico, cuya área fue de un centímetro cuadrado y estuvo unido a un soporta pesos que es una varilla de plástico delgada y lo suficientemente fuerte para soportar el peso del vaso con agua que se adiciona hasta romper el gel.

**Guía del émbolo y soporta pesos:** La guía se realizó con un tubo cuyo diámetro interior es un poco superior que el diámetro exterior de la varilla del soporta pesos, que traspasa para prevenir su movimiento lateral del soporta pesos y que no varíe el contacto horizontal entre el cilindro y la superficie del gel y permanezca constante.

**Soporte universal:** Se usó un soporte universal del laboratorio y con la ayuda de la pinza se unió a la guía del émbolo en parte superior el aro sostiene una pera decantadora de 1000ml de volumen, la cual contenía agua. Esta agua fue transferida al recipiente, el que estaba sosteniendo el soporta pesos y esto genero el peso suficiente como para romper la superficie del gel.

**Vaso con la muestra:** Es un recipiente donde se colocó la muestra de gel del colágeno.

**Preparación de la muestra:** A través de este experimento se determina la resistencia en gramos por centímetro cuadrado que puede soportar el gel formado a partir de una solución de colágeno de colágeno al 6.67%



**Figura 7: Diseño del dispositivo para medir la fuerza gel del colágeno**

FUENTE: Adaptado de Barrenechea (2019)

**Para el objetivo 3:** Determinar el contenido de hidroxiprolina y caracterización microbiológica del colágeno

**Variable independiente:**

- Muestras (3) de colágeno con mayor rendimiento de colágeno con relación del objetivo 1.

**Variable dependiente:**

- Hidroxiprolina
- Coliformes
- *Staphylococcus aureus*
- Moho
- Levaduras

**Diseño Estadístico:** Para este objetivo se utilizó un diseño completamente azar (DCA) con dos replicas.

- **Determinación de hidroxiprolina**

**Método de análisis:** La determinación del contenido de hidroxiprolina, se utilizó según los procedimientos de la AOAC (990.26), el detalle se describe a continuación:

***Preparación de reactivos***

- Se utilizó el ácido sulfúrico a 7 N
- Buffer citrato pH 6: Se disolvió 3g de ácido cítrico monohidratado, 1,5g de hidróxido de sodio y 9g de acetato de sodio trihidratado, en 50 ml de agua des ionizada. Seguidamente se adicionaron 29 ml de 1-propanol, verificamos con el potenciómetro el pH y ajustamos con ácido o base y para finalizar se enrasaron con agua des ionizada a una fiola de 100 ml. Guardamos en una botella ámbar a 4°C.
- Solución oxidante: Fue preparada al disolver 1,41g de cloramina T en 100 ml de buffer citrato pH 6, la solución se mantuvo estable a 4°C por una semana en oscuridad.
- Reactivo de color: para realizar el reactivo se disolvió 2g de 4-dimetilaminobenzaldehído en 7 ml de ácido perclórico 60%. Además, se añadieron

gradualmente 13 ml de 2-propanol y se ha obtenido una solución de 20 ml de reactivo de color, el mismo día del ensayo se preparó la solución

- Soluciones de trabajo de hidroxiprolina para curva estándar: Las soluciones estándar contienen 0.5; 1.0; 3.0 y 5.0 mg de hidroxiprolina/ml, respectivamente. Se preparó estas soluciones el día del ensayo con agua desionizada.

#### ***Acondicionamiento de la muestra***

- Se pesaron 2 a 4 g de muestra de colágeno.
- Se añadió 30 ml de ácido sulfúrico de 7N y se ha cubierto con una tapa con pequeño orificio.
- Se colocaron en estufa por 10 horas a 103°C para su hidrolización a 103°C.
- Se filtró la solución, luego se transfirieron a una fiola de 100ml y enrasamos con agua.
- Se disolvió la solución hasta llegar a una concentración de hidroxiprolina de 0,3 a 4,8 mg/ml.

#### ***Procedimiento***

- Se adicionó 2ml de la dilución final en tubo de ensayo.
- Seguidamente se adicionó 2ml de agua des ionizada para el blanco en tubo de ensayo, también se preparó 2 blancos.
- Añadimos 1ml de solución oxidante a cada tubo y agitamos.
- Se dejaron en reposo por 20 min a temperatura ambiente.
- Se añadió 1ml de reactivo de color a cada tubo
- Se agitaron y se tapó cada tubo.
- Los tubos se colocaron en baño maría a 60°C por 15 min.
- Consecuentemente se enfrió los tubos.
- Medimos la absorbancia en el espectrofotómetro a 558nm

### ***Cálculo del porcentaje de hidroxiprolina según formula***

$$\text{Porcentaje de hidroxiprolina} = \frac{x*d}{50*P}$$

Siendo:

x: Cantidad de hidroxiprolina leída en la curva de patrón.

d: Dilución del filtrado realizado.

P: Peso inicial de la muestra

- **Determinación de las características microbiológicas del colágeno**

#### ***Preparación de la muestra***

La muestra de colágeno se colocó en frascos debidamente rotulados el tipo de muestra y fecha. Seguidamente se transportaron en un cooler a 4°C para su conservación y su traslado inmediato al laboratorio para sus respectivos análisis.

- **Análisis de coliformes:** Metodologías de DIGESA, 2001 (Anexo 15)
- **Análisis de *Staphylococcus aureus*:** Metodología de DIGESA, 2001 (Anexo 15)
- **Análisis de mohos y levaduras:** Metodología de DIGESA, 2001 (Anexo 15)

### **3.6. HIPOTESIS DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.6.1. Hipótesis general**

- Se logró extraer y evaluar las características del colágeno obtenido a partir de escamas de carachi amarillo (*Orestias luteus*).

#### **3.6.2. Hipótesis específicas**

- El tiempo y concentración de hidróxido de sodio influyen significativamente en el rendimiento del colágeno.
- El tiempo y la concentración de hidróxido de sodio influyen significativamente en las características físico químicas del colágeno obtenido.
- El colágeno obtenido presenta hidroxiprolina y las características microbiológicas se encuentra dentro de los límites permisibles.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Se realizó la caracterización físico-organoléptica del carachi amarillo bajo las consideraciones de Organismo Nacional de Sanidad Pesquera (SANIPES), misma que se encuentra en él (Anexo 1), con la finalidad de establecer la aceptación o el rechazo de los pescados evaluados, cuyo resultado se muestran en la tabla.

**Tabla 9: Criterios físico - organoléptico del carachi amarillo**

Ítem a evaluar	Características	Valor
<b>Superficie y consistencia</b>	Superficie lisa y brillante, color gris, mucilago claro y transparente: Consistente firme y elástica bajo la presión de los dedos. Las escamas permanecen firmes.	4
<b>Ojos</b>	Globo ocular convexo y redondeado (en perfecto estado), cornea clara (transparente) y brillante, pupila negra oscura.	4
<b>Branquias</b>	Color rojo sanguíneo; mucosa clara, transparencia y filamentosa.	4
<b>Cavidad Abdominal</b>	Superficie de corte de los globos ventrales con coloración natural (rojiza), sin decoloración, lisa y brillante, peritoneo liso, brillante y muy firme, sangre de color rojo profundo, espinas ventrales firmes y ligadas a las paredes y al peritoneo.	4
<b>Olor</b>	Olor natural, pero fresco.	3
<b>Total</b>		19

Los resultados de la tabla 9, muestran que la materia prima (carachi amarillo) tienen una evaluación de calidad extra, ya que las características fueron calificadas con un puntaje total

de 19. Estas valoraciones se alcanzaron debido a que los peces tenían poco tiempo que ha transcurrido desde la captura, por lo que se puede concluir que los peces utilizados presentan buena calidad. Por ende, los productos analizados cumplen con los requisitos establecidos por la autoridad sanitaria (SANIPES, 2012).

Se realizó un análisis fisicoquímico de las escamas de carachi amarillo, el análisis es de mucha importancia debido a que no se encontraron reportes sobre el análisis fisicoquímico, los resultados se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla 10: Características fisicoquímicos de las escamas de carachi amarillo**

<b>Ensayos</b>	<b>Resultados (%)</b>
Humedad	10.11
Ceniza	49.09
Proteína	40.56
Carbohidrato	0.24
pH	7.40

En la tabla 10, se observa los resultados de las caracterizaciones fisicoquímicas, donde la cantidad de proteína de las escamas de carachi amarillo es de 40.56%, es superior a lo hallado por Basualdo & Delgado (2019), con 23.26% de proteína en escamas de lisa, Solari & Córdova (2015), en su estudio que realizó a las (espinazos, espinas, escamas) de anchoveta presentaron alto contenido de ceniza 15.3%, proteína de 10.8%, la elevada cantidad de ceniza se debe en gran parte a la composición del contenido de calcio que suministra dureza, por lo que coincide con nuestros resultados, el contenido de ceniza es superior a la cantidad de proteínas, también nos menciona que los peces de aguas frías contienen menor cantidad de proteína. Así mismo, Quintero & Zapana (2016), obtuvo 67.96% de proteína de escamas de tilapia, por otro lado, Wang *et al.* (2008), encontró resultados de 56,9% de proteína y 39,4% de ceniza de las escamas de gallinetas, lo cual es superior a nuestros resultados, la variación de resultados puede ser por el tipo de especie, hábitat, también el alto contenido de cenizas que presenta nuestra muestra.

#### 4.2. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL COLÁGENO

Se determinó el rendimiento de colágeno, obtenidos a partir de escamas de carachi amarillo a 12 tratamientos de diferentes concentraciones y tiempos de hidrólisis, obteniendo resultados que se muestran en la siguiente tabla.

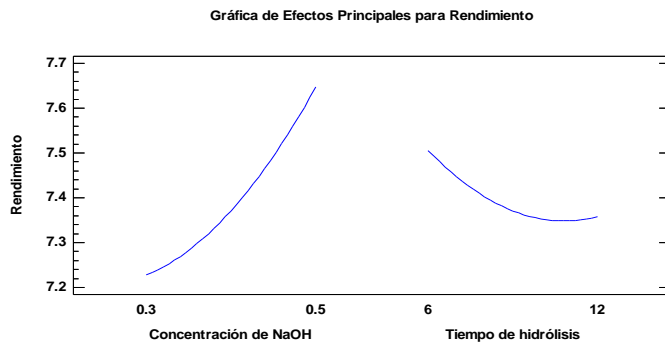
**Tabla 11: Resultados del rendimiento del colágeno**

Tratamiento	Concentración de NaOH (M)	Tiempo (horas)	Rendimiento de colágeno (%)
T1	0.30	6.00	7.37 ± 0.60
T2	0.50	6.00	7.94 ± 0.03
T3	0.30	12.00	7.57 ± 0.01
T4	0.50	12.00	7.12 ± 0.03
T5	0.26	9.00	6.95 ± 0.05
T6	0.54	9.00	8.05 ± 0.01
T7	0.40	4.76	7.48 ± 0.01
T8	0.40	13.24	7.50 ± 0.01
T9	0.40	9.00	7.36 ± 0.02
T10	0.40	9.00	7.40 ± 0.02
T11	0.40	9.00	7.36 ± 0.02
T12	0.40	9.00	7.36 ± 0.02

En la tabla 11, se muestra los resultados obtenidos a diferentes parámetros de concentración de hidróxido de sodio y tiempos de hidrólisis, de los 12 tratamientos se ha obtenido valores más altos del tratamiento T6 presentando valores de 8.05% de rendimiento de colágeno a unas concentraciones de 0.54M de NaOH y tiempos de 9 horas y valores más bajos con rendimientos de 6.95% a una concentración de 0.26M de NaOH y tiempos de 9 horas. Los valores obtenidos fueron superiores a lo presentado por Quintero y Zapana (2016), obteniendo un rendimiento de 2.16% de colágeno de las escamas de tilapia, esto se debería

al uso de ácido acético en la hidrólisis, a diferentes concentraciones en su pretratamiento, Wang *et al.* (2008), obtuvo colágeno a partir de escamas de gallinetas que presenta un rendimiento de 6,8%, la diferencia de rendimientos se puede deber a que se manejan distintas metodologías y diferentes tipos de pescado. Sin embargo son inferiores a los resultados de Ramos (2018), que obtuvo rendimientos de 60% de colágeno de escamas de pescador rojos, utilizando metodología de sólido- líquido, lo cual es superior a nuestro resultado, ya que sus resultados de rendimiento lo realizaron en base húmeda, la muestra de colágeno que obtuvieron tiene mayor cantidad de agua.

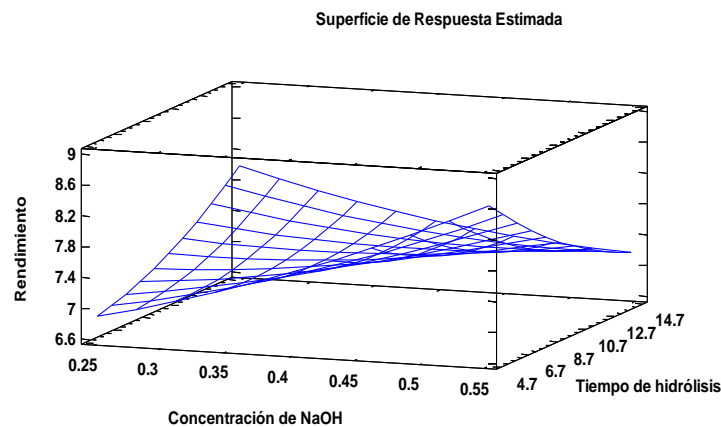
Santos (2020), obtuvo colágeno a partir de residuos de piel con un rendimiento óptimo de 11.28% usando parámetros de 0.4 moles de hidróxido de sodio en tiempo de 10 horas, los resultados son superiores a nuestro experimento debido a que la piel de pescado contiene mayor cantidad de proteínas y mejores características en comparación de la escama, en cuanto a su tratamiento de hidrólisis fueron a menor concentración por lo que consideramos que los rendimientos obtenidos en el experimento son datos considerables. Wang *et al.* (2008), menciona que el rendimiento dependerá de su habitad donde viva, ya que los peces de agua fría contienen menor cantidad de colágeno en comparación con las especies de peces de zonas templadas y tropicales.



**Figura 8: Efectos principales del rendimiento**

El análisis de varianza (Anexo 8), muestra que la concentración de NaOH, tiempo de hidrólisis y sus interacciones, influyen significativamente en el rendimiento, debido a que presenta un valor de P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%, esto coincide con la figura 8, donde se muestra los efectos principales del rendimiento del colágeno obtenido, el rendimiento incrementa a medida que la concentración de NaOH aumenta, Ramli *et al.* (2023), indica en su estudio realizado que el rendimiento se incrementó con el aumento de la concentración de NaOH en el rango de 0.25 a 0.80M, la concentración de la nuestras tiene similares efectos con el

estudio realizado. Antón (2021), realizó el comportamiento del NaOH (0.05 a 1N) con relación al rendimiento, dado que al aumentar su concentración presenta un descenso muy fuerte en su rendimiento, esto se debería a que los efectos en la piel y las escamas no son iguales, debido a que son de diferentes zonas del pescado y el efecto de altas concentraciones afectan su rendimiento. Adicionalmente, podría deberse a la presencia de una alta concentración de grupo hidróxido (-OH) que causa la degradación de las proteínas extraídas en las soluciones de pretratamiento (Ramli *et al.*,2023). En cuanto al efecto del tiempo que genera en el experimento indica que a menores tiempo de hidrólisis es mayor el rendimiento.



**Figura 9: Superficie de respuesta del rendimiento**

El rendimiento óptimo se determinó, según la combinación de los niveles de los factores, con los valores máximos y mínimos, se buscó maximizar el rendimiento del colágeno, encontrando los valores óptimos, en la figura 9, se muestra el punto óptimo la que se encuentra en la parte superior de la figura., obteniendo 8.54% de rendimiento óptimo a concentración de 0.54M de NaOH y tiempos de 4.76 horas de hidrólisis (Anexo 8). Ramli *et al.* (2023), determinó las condiciones óptimas para la extracción de gelatina de la piel de bufalo, usando un diseño compuesto central, encontrando parámetros óptimos de extracción con 17.18% de rendimiento, tienen unas propiedades prometedoras de rendimiento, este estudio muestra que controlar ciertos parámetros puede aumentar ligeramente la extracción sin afectar la calidad de la gelatina. Al optimizar el rendimiento obtenemos el modelo matemático (Anexo 8), con dos factores de (NaOH y tiempo) esto nos ayuda a predecir valores de porcentaje de colágeno que se obtendrá y de esa manera poder maximizar el rendimiento de colágeno.

#### 4.3. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DEL COLÁGENO

En la tabla se muestra como la fuerza gel y pH del colágeno a diferentes parámetros de concentración de hidróxido de sodio y tiempo de 12 tratamientos.

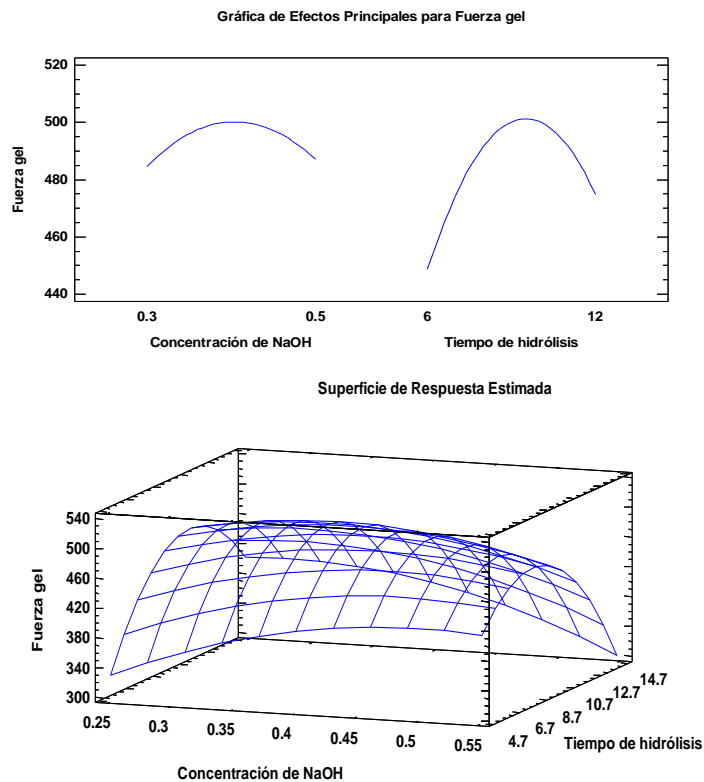
**Tabla 12: Resultados de la determinación de fuerza gel y pH del colágeno**

Tratamiento	Concentración de NaOH (M)	Tiempo (Horas)	Fuerza gel (g/cm <sup>2</sup> )	pH
T1	0.30	6.00	433.03 ± 1.03	6.98 ± 0.02
T2	0.50	6.00	440.31 ± 2.43	7.22 ± 0.08
T3	0.30	12.00	476.93 ± 1.05	6.83 ± 0.01
T4	0.50	12.00	410.15 ± 0.57	7.52 ± 0.01
T5	0.26	9.00	454.43 ± 1.56	6.93 ± 0.01
T6	0.54	9.00	503.22 ± 1.10	7.16 ± 0.01
T7	0.40	4.76	398.30 ± 0.06	7.22 ± 0.01
T8	0.40	13.24	462.55 ± 1.70	7.11 ± 0.01
T9	0.40	9.00	500.08 ± 1.04	7.32 ± 0.02
T10	0.40	9.00	500.12 ± 0.99	7.32 ± 0.01
T11	0.40	9.00	500.05 ± 2.67	7.31 ± 0.03
T12	0.40	9.00	500.51 ± 0.05	7.30 ± 0.01

En la tabla 12, podemos ver que el mayor valor de fuerza gel que se ha obtenido en el estudio es de 503.22gr/cm<sup>2</sup> a concentración de 0.5M de NaOH y tiempo de 9 horas de hidrólisis correspondiente al tratamiento T6, los valores más bajos fueron de 398.30 gr/cm<sup>2</sup> que corresponde al tratamiento T7. Bailach *et al.* (2011), nos menciona que los rangos de fuerza

gel van desde las colas de hueso más débiles que es 30gr hasta las colas de piel más fuerte 500gr y por ende gelificaran antes y formaran enlaces más fuertes, en el experimento se tiene valores superiores a lo mencionado por el autor, por ende, se considera un gel fuerte. Sin embargo; es menor al estudio presentado por Barrenechea (2019), usando la misma metodología en cuanto a la determinación de fuerza gel, obtuvo una fuerza gel de 962gr/cm<sup>2</sup> de colágeno obtenido a partir de la piel de paiche, esto puede deberse a que la piel tiene mejores características fisicoquímicas en cuanto a la cantidad de proteína.

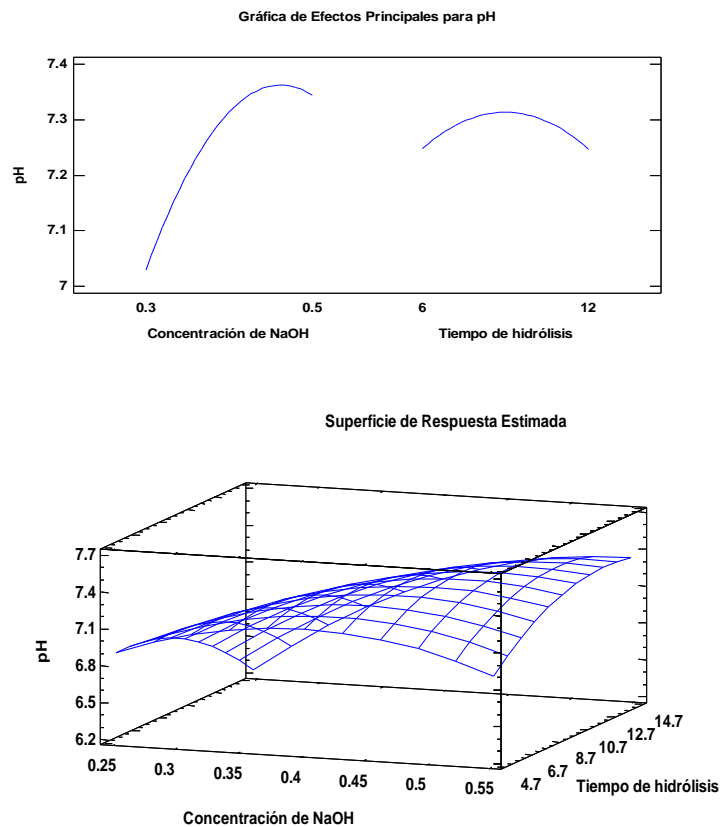
En la tabla 12, también se muestra los valores de pH de colágeno obtenido de los 12 tratamientos, los resultados oscilan entre 6.83 a 7.52 de pH. Ramos (2018), señala que el pH del colágeno es un factor importante por lo que debe mantenerse a pH entre 7 y 8 casi neutro. Sin embargo; Liu *et al.* (2012), menciona que un pH neutro o alcalino puede afectar su solubilidad y en el experimento los tratamientos T1,T3,T5 están por debajo de pH 7 esto debido al uso de ácido acético en proceso de neutralizado.



**Figura 10: Efectos principales y superficie de respuesta de fuerza gel.**

La figura 10, se muestra los efectos principales de fuerza gel, donde a medida que se eleva la concentración de NaOH aumenta la fuerza gel, obtenido un valor óptimo de 501.381 gr/cm<sup>2</sup> hasta llegar al punto óptimo con una concentración de 0.39M y por encima de dicho valor tiende a disminuir. A sí mismo, para el tiempo de hidrólisis se muestra que, al aumentar el tiempo, incrementa la fuerza gel hasta llegar al punto óptimo de 9.56 horas ya, sobrepasando este valor disminuye la fuerza gel. Sousa (2010), indica que el valor comercial de la gelatina mientras mayor fuerza gel posea, mayor será su costo dentro del mercado. En el experimento realizado nos permitió encontrar el punto óptimo, lo cual ayuda a mejorar la fuerza gel del colágeno obtenido.

Según el análisis de varianza (ANOVA) que se presenta en el anexo 9, el tiempo de hidrólisis y las interacciones tiempo-tiempo, concentración-tiempo, concentración- concentración de NaOH influyeron significativamente en la fuerza gel, porque tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.



**Figura 11: Gráfica de efectos principales y superficie de respuesta de pH**

En la figura 11, se muestra que los efectos del pH del colágeno, al inicio aumenta al incrementar la concentración de NaOH hasta el punto óptimo de 0.50M, una vez sobrepasada el óptimo va en descenso, respecto al tiempo en un inicio incrementa el pH hasta llegar a 11.4 horas, sobrepasado ese valor disminuye el pH, obteniendo un pH óptimo de 7,4.

En cuanto al análisis de varianza (Anexo 10), la concentración de NaOH e interacciones concentración-concentración, concentración- tiempo, tiempo-tiempo influyen en el pH al presentar un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 13: Resultados de la caracterización química del colágeno**

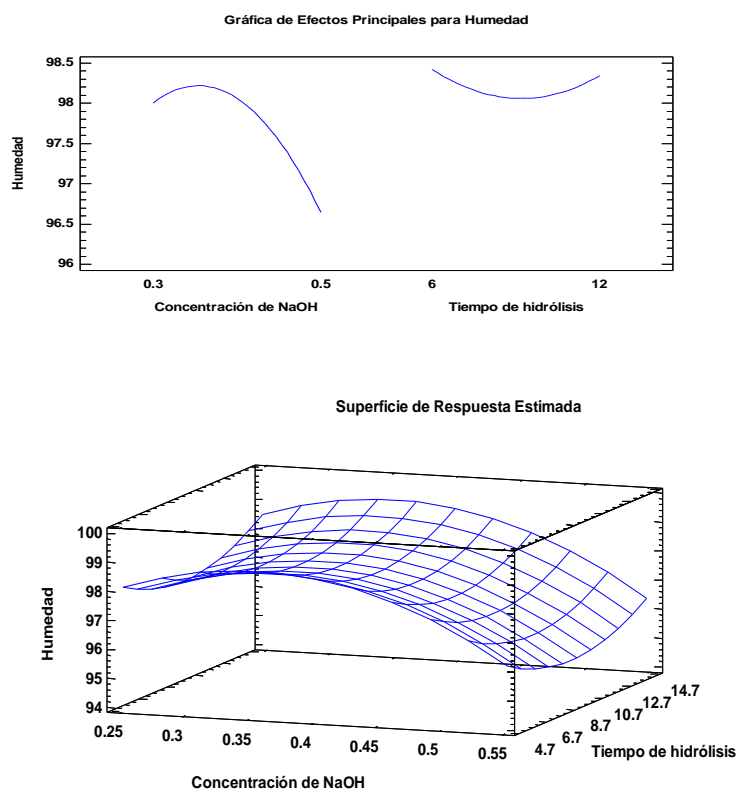
Tratamiento	Concentración				
	De NaOH (M)	Tiempo (horas)	Humedad (%)	Ceniza (%)	Proteína (%)
T1	0.30	6.00	97.95 ± 0.05	0.16 ± 0.02	1.88 ± 0.02
T2	0.50	6.00	97.92 ± 0.06	0.17 ± 0.00	1.84 ± 0.02
T3	0.30	12.00	98.03 ± 0.03	0.19 ± 0.01	1.78 ± 0.01
T4	0.50	12.00	97.95 ± 0.05	0.77 ± 0.01	1.27 ± 0.02
T5	0.26	9.00	98.16 ± 0.02	0.15 ± 0.02	1.64 ± 0.01
T6	0.54	9.00	94.39 ± 0.02	0.19 ± 0.01	5.04 ± 0.01
T7	0.40	4.76	98.53 ± 0.02	0.15 ± 0.01	1.31 ± 0.01
T8	0.40	13.24	98.24 ± 0.01	0.13 ± 0.02	1.61 ± 0.02
T9	0.40	9.00	98.05 ± 0.01	0.25 ± 0.02	1.50 ± 0.02
T10	0.40	9.00	98.06 ± 0.01	0.25 ± 0.01	1.51 ± 0.02
T11	0.40	9.00	98.08 ± 0.02	0.23 ± 0.01	1.50 ± 0.02
T12	0.40	9.00	98.06 ± 0.02	0.24 ± 0.01	1.49 ± 0.02

En la tabla 13, se muestra los resultados obtenidos de la caracterización química a diferentes parámetros de concentración de NaOH y tiempos de hidrólisis, cuyos resultados se encuentran en base humada, los mejores resultados obtenidos son del tratamiento T6, a concentración de 0.5 M de NaOH con un tiempo de 9 horas de hidrólisis presenta 94.39% de humedad, 0.19% de ceniza, 5.04% de proteína, los valores de ceniza oscilan entre 0.13% a 0.77%. En cuanto a la cantidad de ceniza, hay una diferencia abismal con respecto a la materia prima inicial, esto es posiblemente a que el uso de NaOH ayudo en la disminución de ceniza en el colágeno.

Así mismo, Giraldo (2019) expreso que una desmineralización no es necesaria, ya que este tratamiento puede causar deterioro a la estructura de la materia prima. Respecto a los resultados de proteína son superiores a los resultados de Basualdo y Delgado (2019), con 1.8% de proteína, 97% de humedad, que obtuvo a base del colágeno de las escamas de lisa, esto se puede deber a que en nuestro estudio realizamos a mayores tiempos de hidrólisis y elevadas concentraciones de NaOH. Sin embargo, nuestros resultados son menores a los resultados presentados por Ramos (2018), los cuales obtienen 40% de proteína, evaluando el colágeno obtenido a partir de las escamas de pescado rojos y pardos, esto se debería a que antes de su extracción pasaron por un proceso de molienda, esto favoreció en su extracción de colágeno.

Solaris y Cordova (2015), reportan valores de 8% de humedad, 0.7% de ceniza y 87.6% de proteína del colágeno a partir de espinas y escamas, el cual es superiores al estudio, ya que el resultado que reportan está en base seca, con menores porcentajes de humedad, Lleren y Rodriguez (2017), obtiene en su estudio de optimización de colágeno a partir de pescado (vejiga natatoria) con características de 87% humedad, 1% de ceniza y 12.55% proteína de la cual es más alta en proteína y ceniza en comparación de nuestro estudio, esto se debería al uso de una materia prima diferente al estudio realizado, a la vez en su metodología usaron enzimas para la obtención de colágeno. Antes de su extracción los autores mencionados hacen uso del el NaOH, ya que es como una sustancia estimulante, cuando entra en contacto con las proteínas de los tejidos vivos, las hace estallar, en un ambiente de mayor concentración, acelera la reacción .Sin embargo, la concentración de un agente hidrolizante no se puede exceder, porque después de la hidrólisis, los aminoácidos y péptidos se destruyen cuando entran en un ambiente acuoso, pero como base

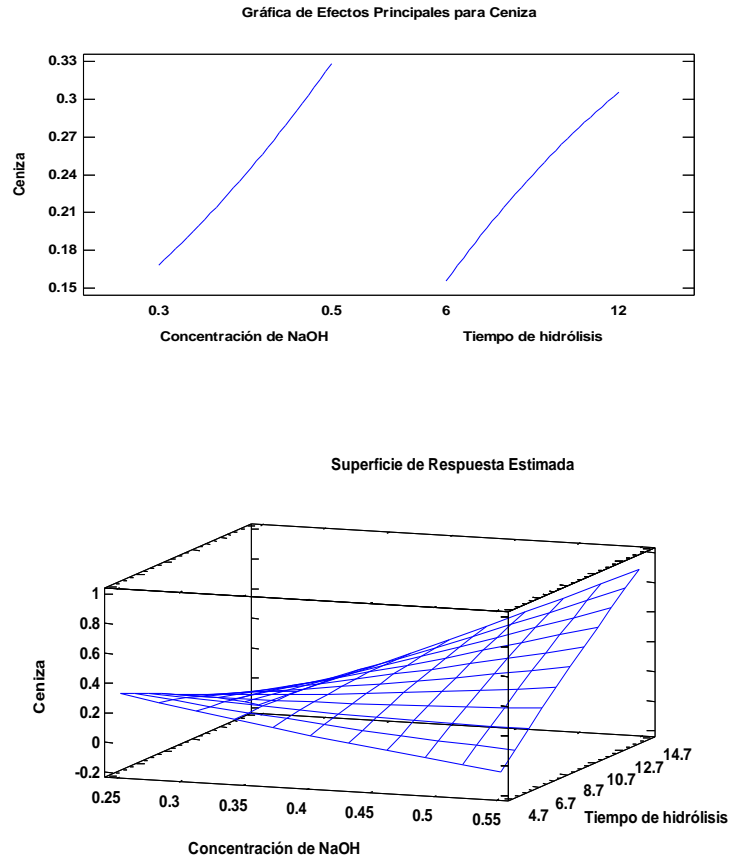
fuerte, también puede hidrolizar las moléculas de colágeno, aunque sean moléculas fibrosas y resistentes (Magrama, 2012).



**Figura 12: Gráfico de efectos principales y superficie de respuesta de la humedad**

En la figura 12, se puede observar los efectos en la humedad, en un inicio aumenta la humedad a medida que incrementa la concentración de NaOH hasta llegar a un aproximado de 0.35M, sobrepasado ese valor tiende a disminuir por lo que podemos decir, que a levadas concentraciones de NaOH disminuye la humedad, En cuanto al tiempo en inicio al aumentar el tiempo de hidrolisis disminuye la humedad hasta llegar a un tiempo de 9.3 horas aproximadamente, sobrepasado ese tiempo tiende a subir la humedad, en consecuencia estos parámetros influyen en la humedad, en el experimento realizado obtuvimos mejores contenidos de proteína a humedades relativamente bajas, al minimizar la humedad llega a un valor óptimo de 95.63%.

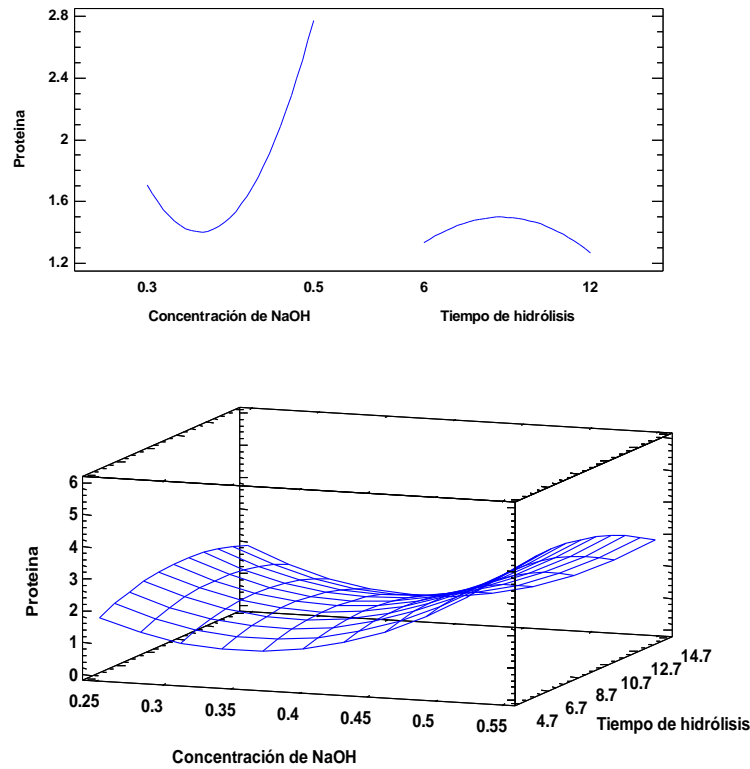
En el análisis de varianza del (Anexo 11), se puede ver que la concentración de NaOH, interacción de concentración-concentración, tiempo-tiempo, influye significativamente en la humedad, debido a que presenta un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.



**Figura 13: Gráfico de efectos principales y superficie de respuesta de la ceniza**

En la figura 13, se puede apreciar que el contenido de ceniza aumenta al incrementar las concentraciones de NaOH, así mismo en el efecto de tiempo de hidrólisis, a mayores tiempos de hidrólisis aumenta el contenido de ceniza. El valor óptimo de ceniza obtenido es de -0.056 % a concentraciones de 0.23% con un tiempo de 13.24 horas. Giraldo (2019), menciona en su estudio que la cantidad de ceniza es influenciada por la hidrólisis alcalina, puesto que el pretratamiento alcalino que realizo presento bajo porcentaje de ceniza con respecto a la materia prima inicial por lo que en nuestro estudio coincidimos con dicho autor.

En el análisis de varianza (Anexo 12), se puede ver que la concentración, tiempo y la interacción de concentración-tiempo, influyen en el contenido de ceniza, dado que son significativos al presentar un valor P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.



**Figura 14: Gráfica de efectos principales y superficie de respuesta de la proteína**

En figura 14, se puede observar el efecto de la proteína, en un inicio la proteína tiende a disminuir al incrementar la concentración de NaOH, hasta llegar a 0.4M de NaOH aproximadamente una vez sobrepasado esa concentración el porcentaje de proteína aumenta a medida que la concentración de NaOH incrementa. Sin embargo, a mayor tiempo de hidrólisis se incrementa la proteína hasta llegar al tiempo óptimo de 7.5 horas y por encima de ese valor se tiene la tendencia a disminuir. La proteína óptima es de 3.79% a una concentración de 0.54 de NaOH con un tiempo de 7.50 horas.

En el análisis de varianza (Anexo 13), la concentración e interacción de concentración-concentración, influye significativamente por presentar un valor P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%. Quintero y zapata (2017), explico que sometieron a hidrólisis alcalina, la cual se observó que influye el hidrolizado de proteínas del tejido conectivo de la piel, espina, escama, en concentraciones de 0.1M a 0.4M de NaOH y 12 horas de hidrólisis, sin embargo, en nuestro estudio a mayores concentraciones se obtiene mejores resultados de proteína, a causa de que el NaOH es una base fuerte capaz de romper enlaces químicos.

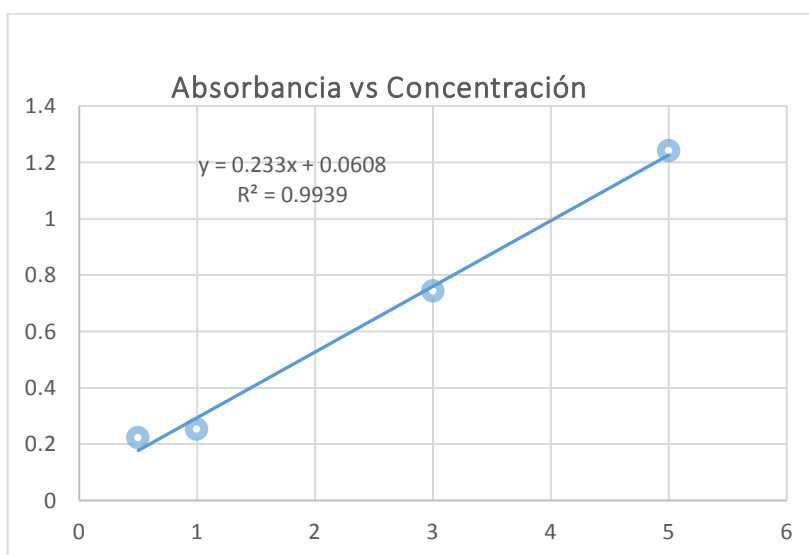
#### 4.4. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE HIDROXIPROLINA

Para determinar la cantidad de hidroxiprolina, del objetivo 1, se tomó tres muestras de colágeno, considerando los tratamientos con mayor rendimiento que presentaron los 12 tratamientos, estos fueron. T2 (0.5M de NaOH y 6 horas), T3 (0.3M de NaOH y 12 horas), T6 (0.54M de NaOH y 9 horas)

En la tabla se muestra las soluciones estándar de trabajo que contienen 0.5,1,3 y 5 mg de hidroxiprolina/ml y se midieron la absorbancia en el espectrofotómetro a 558nm.

**Tabla 14: Datos para la curva de calibración de hidroxiprolina**

Concentración	Absorbancia
0.5	0.222
1	0.252
3	0.743
5	1.240



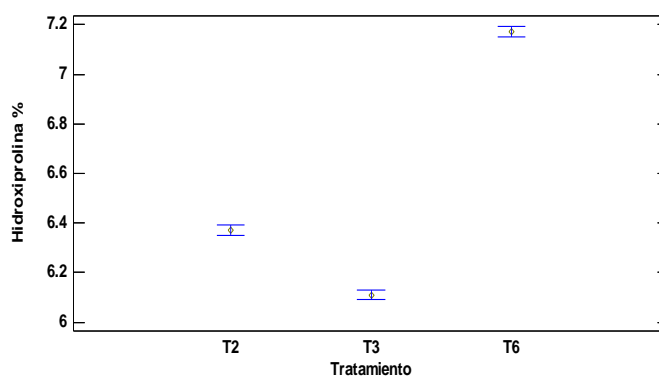
**Figura 15: Curva de calibración**

En la figura 15, se puede ver la curva de calibración y su ecuación la cual se usó para calcular la concentración de hidroxiprolina en las tres muestras de colágeno (Anexo 7), con esos datos logramos obtener el porcentaje de hidroxiprolina, cuyos resultados se muestran en la tabla 15.

**Tabla 15: Contenido de hidroxiprolina en el colágeno**

Muestra	Resultados (%)
T2	6.37 ± 0.01
T3	6.11 ± 0.03
T6	7.17 ± 0.005

La tabla 15, nos muestra los resultados de la cantidad de hidroxiprolina que presenta las 3 muestras de colágeno, donde T6 presenta mejores resultados de 7.17% de hidroxiprolina, lo cual es mayor al estudio de Quintero y Zapana (2016), quien analizó la hidroxiprolina del colágeno obtenido a partir de escamas de tilapia roja obteniendo un resultado de 0,235%, esto se podría deber a que el análisis, que realizo el autor fue: en base húmeda, a su vez considerando que tienen diferentes metodologías de extracción, Quispe y Gutierrez (2019); Mamani, (2018), presentan valores similares de 8.05% de hidroxiprolina, lo cual son ligeramente superior a nuestros datos, esto puede deberse a elevadas concentraciones de NaOH, ya que pudo afectar la proteína, a su vez usaron diferentes especies. Sin embargo, el cuantificar la hidroxiprolina es muy importante, dado que, su contenido de hidroxiprolina en el colágeno está estrechamente relacionado con la termo estabilidad (Privalov, 1982). Además, la hidroxiprolina ayuda a la estabilidad de la estructura del triple hélice donde forman enlaces de hidrógeno a través de grupos hidroxilo (Kittiphattanabawon *et al.* 2005). por ende, en nuestros experimentos podemos decir que las cadenas de triple hélice no se han desnaturalizado, por lo que se encuentra cantidades de hidroxiprolina considerables.



**Figura 16: Grafico de medias y 95.0% de Tukey HSD**

La figura 16, nos muestra la diferencia estimada entre cada par de medias por el cual (T2-T3), (T2-T6), (T3-T6) estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza (Anexo 14).

El T6, que está a concentración 0.54 M NaOH y 9 horas lo cual es el que presenta mayor diferencia significativa, debido a que presenta elevado contenido de hidroxiprolina, coincidiendo con Rami *et al.*, (2023), obtiene mayor cantidad de hidroxiprolina a mayores concentraciones de NaOH. Sin embargo, se cree que un alto contenido de hidroxiprolina da como resultado una gelatina con menor fuerza de gel pero mejor rendimiento (Tabarestani *et al.*, 2010).

#### 4.5. CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL COLÁGENO

**Tabla 16: Resultados de los análisis microbiológicos**

Ensayos microbiológicos	M1	M2	M3
Coliformes totales (UFC/g)	< 10	< 10	< 10
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	< 10	< 10	< 10
Moho (UFC/g)	< 10	< 10	< 10
Levaduras (UFC/g)	< 10	< 10	< 10

Nota: UFC =Unidades Formadoras de Colonias/g

En la tabla 16, se muestra los resultados de las tres muestras de colágeno obtenidas a partir de escamas, las muestras analizadas se encuentran dentro de los límites establecidos según, R.M.N°591-2008-ministerio de salud del Perú (MINSA). Alzamora *et al.* (2019), en su estudio realizó las características microbiológicas del colágeno obtenido a partir de las escamas de mero, encontrando un resultado con límites aceptables, presentando ausencia en coliformes totales, sin presencia de mohos y escasas presencia de levaduras. Por otro lado, Barrenechea (2019), también evaluó las características microbiológicas de colágeno

obtenido de piel de pescado, obteniendo resultados que están por debajo de los límites recomendados por el Ministerio de Salud y Dirección General de Salud Ambiental. La escasa presencia de microorganismos se debe a que en ambos procesos que usaron los autores para su obtención son sometidos a la temperatura superior a 55 °C. A sí mismo en el estudio realizado se sometió a temperaturas de 60°C, a su vez la adecuada manipulación del producto ayudo a eliminar la presencia de microorganismos, lo que indica que el colágeno estas en buenas condiciones de higiene.

En las características microbiológicas, no se realizó el análisis estadístico debido a que los valores obtenidos son todos iguales.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. CONCLUSIONES

Se obtuvo un rendimiento de colágeno de 8.54% mediante la hidrólisis de escamas de carachi amarillo, utilizando una concentración de hidróxido de sodio de 0.54 moles y un tiempo de hidrólisis de 4.76 horas. Además, se encontró que tanto el tiempo como la concentración tuvieron un efecto significativo en el rendimiento del colágeno obtenido, ya que es importante considerar estos factores al realizar procesos de hidrólisis, para obtener el mayor rendimiento posible de colágeno a partir de escamas de carachi amarillo.

Las características fisicoquímicas del colágeno obtenido de escamas de carachi amarillo, fue 5001.381 gr/cm<sup>2</sup> de fuerza gel (concentración de 0.39M de NaOH y un tiempo de 9.6 horas), 7.39 de pH (concentración de 0.50 M de NaOH y un tiempo de 11.44 horas), 95.63% de humedad (concentraciones de 0.54 M de NaOH y un tiempo de 9.28 horas), -0.05 de ceniza (concentraciones de 0.23 M de NaOH y un tiempo de 13.24 horas), 3.78% de proteína (concentraciones de 0.54 M de NaOH y un tiempo de 7.49 horas). La concentración de NaOH influye significativamente en el pH, humedad, ceniza, proteína y el tiempo influye significativamente en la fuerza gel y cenizas. Esto significa que es posible ajustar las condiciones de extracción para obtener colágeno con características específicas. Además, debido a su alta fuerza gel, el colágeno extraído puede ser utilizado en la industria alimentaria tanto como espesante o como aditivo para bebidas.

La mayor cantidad de hidroxiprolina que presenta el colágeno extraído a partir de escamas de carachi amarillo es de 7.16% que corresponde al tratamiento T6 (concentración de 0.54M de NaOH y 9 horas). La presencia de hidroxiprolina en el colágeno es importante, ya que es un aminoácido característico de esta proteína y su

concentración es un indicador de la cantidad y calidad del colágeno presente. En cuanto a las características microbiológicas, cumplen con los mínimos permisibles establecidos en la norma del MINSA. lo que indica que el proceso de extracción no contaminó el colágeno con microorganismos perjudiciales para la salud.

## **5.2. RECOMENDACIONES**

- Emplear tiempos de hidrólisis más cortos y más largos para identificar el tiempo ideal que conduzca al máximo rendimiento de colágeno.
- Realizar una caracterización del colágeno obtenido en términos de pureza, contenido de aminoácidos y otras propiedades fisicoquímicas, para su aplicación en la industria alimentaria.
- Determinar la cantidad de hidroxiprolina de colágeno obtenido a partir de diferentes tipos de especie y comparar.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, P., Silva, J., Silva, L., Brito, T., & Curvelo, C. (2013). Quality assurance and economical feasibility of an innovative product obtained from a byproduct of the meat industry in Brazil. *African Journal of Business Management*, 7(27), 2745–2756. <https://doi.org/10.5897/AJBM2013.6977>
- Alzamora, J., Ruiz, S., & Silva, D. (2019). *obtención y caracterización de colágeno a base de escamas de mero (Acanthistius pictus)*. (Tesis de pregrado) Universidad Nacional de Piura, 94.
- Ancasi, E. G., Carrillo, L., & Benítez Ahrendts, M. R. (2006). Mohos y levaduras en agua envasada y bebidas sin alcohol. *Revista Argentina de Microbiología*, 38(2), 93–96.
- ANMAT. (2006). Guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos. Microbiología de Los Alimentos Fund., 13–14. <https://goo.gl/awcz18>
- Antón, J. J. (2021). *Tratamiento de residuos sólidos de pescado para la obtención de colágeno en el puerto de Huacho- 2019*. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.
- Anzueta, X. Y. (2020). *Las escamas del pescado, una mirada alternativa como fuente de colágeno y su uso en la industria alimentaria*. 1–23.
- Association Of Analytical Communities. (2005). *Official Methods of Analysis*.
- Atencio, M. W. R. (2013). *Determinación de la concentración letal media Determinación de la concentración letal media (CL50-96) y efecto histopatológico del sulfato de cobre mediante bioensayos con alevinos del carachi amarillo (Orestias luteus)*. (Tesis de pregrado ) Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, 84.
- Bae, I., Osatomi, K., Yoshida, A., Osako, K., Yamaguchi, A., & Hara, K. (2008). Biochemical properties of acid-soluble collagens extracted from the skins of underutilised fishes. *Food Chemistry*, 108(1), 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.039>
- Bailach, C., Fuster López, L., Yusa Marco, D. J., Talens Oliag, P., & Vicente Palomino, S. (2011). Gelatinas y colas para el uso en tratamientos de restauración. Estado de la cuestión. *Arché*, 6–7, 17–22. <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/33041>
- Barrenechea, E. J. (2019). *Aprovechamiento de la piel de paiche (arapaima gigas) para la obtención de colágeno*. (Tesis de pregrado ) Universidad Nacional Agraria La Molina, 76.

- Basualdo, I. C., & Delgado, J. M. (2019). *Obtención y caracterización fisicoquímica , químico proximal y sensorial de gelatina a base de escamas de pescado y aguaymanto ( Physalis peruviana )*. (Tesis de pregrado) Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Banco Central de Reserva del Perú. (2022). *Puno : Síntesis de Actividad Económica - Enero 2022-*.
- Bitar, M., Salih, V., Brown, R. A., & Nazhat, S. N. (2007). Effect of multiple unconfined compression on cellular dense collagen scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(2), 237–244. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0685-1>
- BOE. (1982). *Metodo de análisis químico*, Metodos oficiales de analisis de carne y productos carnicoa
- Braña, V. D., Ramirez, R. E., Sánchez, E. A., & Tor. (2011). Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne. In *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en ruminantes*. [https://www.academia.edu/22857285/\\_Manual\\_de\\_Análisis\\_de\\_Calidad\\_en\\_Muestras\\_de\\_Carne](https://www.academia.edu/22857285/_Manual_de_Análisis_de_Calidad_en_Muestras_de_Carne)
- Cheftel, J.-C., Cheftel, H., & Besancon, P. (1976). *Introducción a la Bioquímica y tecnología de los Alimentos* (Acriba).
- Chura, C. R., & Mollocondo, H. H. (2009). Desarrollo de la acuicultura en el Lago Titicaca ( Perú ). *Revista Aqua TIC*, 6–19.
- Centro de Investigación y Desarrollo Acuícola Boliviano. (2002). *Manual area de transformacion y comercializacion " Hojuelas de carachi"*. [http://www.alt-perubolivia.org/Web\\_Bio/PROYECTO/Docum\\_bolivia/21.24 manual2.pdf](http://www.alt-perubolivia.org/Web_Bio/PROYECTO/Docum_bolivia/21.24 manual2.pdf)
- Centro de Investigación y Desarrollo Acuícola Boliviano. (2003). *Guía técnica reproducción y crianza de género Orestias*. Asociación IIP Qollasuyo –CIDAB. <https://docplayer.es/27464056-Asociacion-iip-qollasuyo-cidab-subcontrato-programa-de-crianza-de-peces-en-habitats-de-totora-peru-bolivia-guia-tecnica.html>
- de Paz, L. P. (2006). *Estimulante de la síntesis de colágeno en cultivos celulares Posible tratamiento de enfermedades* (Tesis Doct).
- de Sosa, A., Doadrio, I., Ornelas, C., Caiola, N., Pedraza, C., Flores, O., Monroy, M., & Maceda, A. (2010). *Estudio genetico de las especies ícticas nativas del lago Titicaca cractrización y estructura poblacional*.

- Dirección General de Salud Ambiental. (2001). *Manual de analisis microbiologico de alimentos Direccion*
- Dirección Regional de Producción. (2008). *Reproduccion artificial de peces nativos del lago titicaca*. 12.  
[http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/1/jer/PROPELCA\\_OTRO/difusion-publicaciones/pepa-puno/Manual\\_reproduccion\\_spp\\_nativas\\_Saman.pdf](http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/1/jer/PROPELCA_OTRO/difusion-publicaciones/pepa-puno/Manual_reproduccion_spp_nativas_Saman.pdf)
- Doyle, M., & Beuchat, L. (2007). Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition. In G. 30223-1797 Center for Food Safety, The University of Georgia, Griffin (Ed.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition*.  
<https://doi.org/10.1128/9781555815912>
- El-Rashidy, A. A., Gad, A., Abu-Hussein, A. E. H. G., Habib, S. I., Badr, N. A., & Hashem, A. A. (2015). Chemical and biological evaluation of Egyptian Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish scale collagen. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79, 618–626. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.05.019>
- Ferreira, da S. T., & Barretto, P. A. L. (2012). Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. *Revista Do Instituto Adolfo Lutz*, 71(3), 530–539.
- Gávez, A., Flores, I., & González, A. (2013). *Propiedades funcionales de las proteínas*. (Química de).
- Gelse, K., Pöschl, E., & Aigner, T. (2003). Collagens - Structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(12), 1531–1546.  
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.002>
- Giraldo, D. E. (2019). *Modelamiento del proceso de extracción de colageno a partir de subproductos piscícolas mediante el uso de membranas de filtración a flujo cruzado*. Universidad de Antioquia Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias.
- Gomez, A., & Benitez, T. M. J. (2011). *Evaluar el posible uso de la escama de cachama y tilapia como desecho de la producc.pdf* (p. 55).
- Gomez, M., Giménez, B., Lopez, M., & Montero, M. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1813–1827. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007>
- Hernández, S. R., Fernández, C. C., & Baptista, L. M. del P. (2014). *Metodología de la investigación* (S. A. D. C. . McGRAW-HILL / Interamericana editores (ed.); 6ta Edición).
- Huang, C., Kuo, J., Wu, S., & Tsai, H. (2016). Isolation and characterization of fish scale

- collagen from tilapia ( *Oreochromis sp.* ) by a novel extrusion – hydro-extraction process. *FOOD CHEMISTRY*, 190, 997–1006. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.066>
- Ikoma, T., Kobayashi, H., Tanaka, J., Walsh, D., & Mann, S. (2003). *Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of Pagrus major and Oreochromis niloticas*. 32, 199–204. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(03\)00054-0](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(03)00054-0)
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Nagai, T., & Tanaka, M. (2005). Isolation and characterisation of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of Brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). *Food Chemistry*, 93(3), 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.026>
- Karim, A. A., & Bhat, R. (2009). Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 563–576. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.002>
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2005). *Food Chemistry Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper ( Priacanthus tayenus )*. 89, 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.042>
- Li, Z., Wang, B., Chi, C., Zhang, Q., Gong, Y., Tang, J., Luo, H., & Ding, G. (2013). Food Hydrocolloids Isolation and characterization of acid soluble collagens and pepsin soluble collagens from the skin and bone of Spanish mackerel ( *Scomberomorus niphonius* ). *Food Hydrocolloids*, 31(1), 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.001>
- Liu, D., Liang, L., Regenstein, J. M., & Zhou, P. (2012). Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Food Chemistry*, 133(4), 1441–1448. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.032>
- Liu, H., & Huang, K. (2016). Structural Characteristics of Extracted Collagen from Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Bone: Effects of Ethylenediaminetetraacetic Acid Solution and Hydrochloric Acid Treatment. *International Journal of Food Properties*, 19(1), 63–75. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.951939>
- Lleren, D. T. E., & Rodriguez, T. W. P. (2017). *Obtención y caracterización de un hidrolizado de colágeno purificado producido mediante el uso de la enzima delvolase* *Obtaining and characterizing a purified collagen hydrolyzize produced by the use of the enzyme*. 78(2), 251–259.
- Mamani, M. D. (2018). Obtención de colágeno hidrolizado de bovino a través de procesos enzimáticos. In *Universidad Mayor de San Andrés* (Vol. 5, Issue 48, pp. 01–75).

<http://www.zonaeconomica.com/analisis-financiero/cuentas>  
cobrar%0A<http://www.redalyc.org/pdf/290/29012059009.pdf>%0A<https://www.faeditorial.es/capitulos/gestionmorosidad.pdf>%0A[https://unadmexico.blackboard.com/bbcswebdav/institution/DCSBA/Bloque 1/NA/02/N](https://unadmexico.blackboard.com/bbcswebdav/institution/DCSBA/Bloque%201/NA/02/N)

Martínez, P. susana. (2005). *Influencia de la Catalasa y de la  $\beta$ -Toxina en la patogénesis de "Staphylococcus aureus"*. <http://biblioteca.ucm.es/tesis/vet/ucm-t28578.pdf>

Mathews, C. K., Van Holde, K. ., & Ahern, K. G. (2002). *Bioquímica* (p. 1366).

McKee, T. (2014). The neuropathology of sport. *Aminoácidos, Péptidos y Proteínas. En Bioquímica Las Bases Moleculares de La Vida*, 110.

Meisenberg, G., & Simmons, W. (2019). *Principios de bioquímica medica*. 4ta ed.

Mamani, H. C. A. (2018). *Obtención de colágeno por el método de provenientes de la industria avícola en la región Arequipa*. (Tesis de Pregrado)Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, 95.

Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente (Gobierno de España). (2012). Guía para el aprovechamiento de los subproductos de pescado para la obtencion de productos funcionales y bioactivos.

Ministerio de Producción. (2010). - Resolución Ministerial N°271-201.

Miranda, R., & Escala, M. (2002). *Guia de identificacion de restos oseos de los ciprinos presentes en españa*. Universidad Navarra, 3.

Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., & Duodu, K. G. (2004). Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, 85(1), 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.006>

Núñez, J. M. F. (2011). *Obtención de colágeno por hidrólisis alcalina- enzimática del residuo de "wet blue" en el proceso de curtición*. (Tesis de Pregrado) Escuela Superior Politecnica de Chimborazo.

Ogawa, M., Portier, R. J., Moody, M. W., Bell, J., Schexnayder, M. A., & Losso, J. N. (2004). Biochemical properties of bone and scale collagens isolated from the subtropical fish black drum (*Pogonia cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry*, 88(4), 495–501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.006>

Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y alimentación. (1998). El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad. Composición Química. Organización de

- las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. *FAO Documento Tecnico de Pesca. Ministerio de Pesca*, 348, 1–144. <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s00.htm>
- Parenti, L. R. (1984). A taxonomic revision of the andean killifish genus orestias (Cyprinodontiformes, Cyprinodontidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 178(2), 107–214.
- Proyecto Especial binacional Lago Titicaca. (2019). Reproduccion artificial de especies nativas. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Pérez, J., & García, A. (2009). Modelos adaptativos en Zoología ( Manual de prácticas ) 5 . Esqueletos : hidrostatos , exoesqueletos y endoesqueletos. *Reduca, May 2014*.
- Potaros, T., Raksakulthai, N., Runglerdkreangkrai, J., & Worawattanamateekul, W. (2009). Characteristics of collagen from nile tilapia (*oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods. *Kasetsart Journal - Natural Science*, 43(3), 584–593.
- Privalov, P. (1982). *Advances in Protein Chemistry Advances in Protein Chemistry Volume 35 Volume 35 || Stability of Proteins*.
- Qollasuyo. (2003). *Compendio de publicaciones “Especies ícticas nativas del Lago Titicaca-Chucuito”*. 172. <https://docplayer.es/25859587-Compendio-manual-y-guias-tecnicas-para-especies-icticas-nativas-del-lago-titicaca.html>
- Quintero, J., & Zapana, 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. *Informacion TTecnologica*, 28(1), 109–120. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100011>
- Quispe, S., & Gutierrez, L. D. (2019). “Extracción Del Colágeno a Partir De Los Residuos De La Trucha Y Determinación Del Rendimiento Y Su Aplicación Como Gelatina.” *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Ramli, R. A., Mohamad Razali, U. H., & Izzreen Mohd Noor, N. Q. (2023). Optimization of extraction conditions of gelatin from buffalo (*Bubalus bubalis*) skins using response surface methodology. *Heliyon*, 9, e14367. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14367>
- Ramos, C. C. D. (2018). *Obtención y caracterización de colágeno a partir de las escamas de pescado rojo y pardo*. 59.

- Ricard-Blum, S. (2011). The Collagen Family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(1), 1–19. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004978>
- Romero, S. R. (2016). “*Obtención de gelatina de piel de perico (Coryphaena hippurus) y caracterización de sus propiedades fisicoquímicas.*” Tesis de Pre Grado, 0–33.
- Roque, C. A. (2019). *Viabilidad técnica para cultivos de (Orestias sp) en jaulas flotantes en la laguna Aricota de Tacna-2018.*
- Ruiz, V. H. (2013). Peces : generalidades sobre su biología y clasificación. *Biología Marina y Oceanografía: Conceptos y Procesos*, 31. <http://biblio3.url.edu.gt/Publi/Libros/2013/BioMarina/09.pdf>
- Sahithi, B., Sk, A., Sk, H., Sahithya, G., M, D. P., & Lakshmi, Y. (2013). A review on collagen based drug delivery systems. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(June), 461–468.
- SANIPES. (2012). Procedimiento: Inspección sanitaria de productos hidrobiológicos en zona de frontera.
- Santos, B. C. A. (2020). *Obtención de colágeno a partir de los residuos de pescado provenientes del mercado de abastos del distrito de Huacho.* Tesis de Pre Grado, 65.
- Sarmiento, J., & Barrera, S. (2003). *Lista de Peces Amenazados de Bolivia, Fauna Amenazada de Bolivia.* <http://murcielagosdebolivia.com/images/PDF/librorojocompleto.pdf>
- Schoof, H., Apel, J., Heschel, I., & Rau, G. (2001). Control of pore structure and size in freeze-dried collagen sponges. *Journal of Biomedical Materials Research*, 58(4), 352–357. <https://doi.org/10.1002/jbm.1028>
- Serrano, G. J. C. (2011). *Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteado de tilapia ( Oreochromis sp) y cachama ( Piaractus brachipomus).* (Tesis de Maestría ) Universidad Nacional de Colombia, 85.
- Sharpe, P. T. (2001). *Fish scale development : Hair today , teeth and scales yesterday ?* 751–752.
- Shyni, K., Hema, G. S., Ninan, G., Mathew, S., Joshy, C. G., & Lakshmanan, P. T. (2014). Food Hydrocolloids Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna ( Katsuwonus pelamis ), dog shark ( Scoliodon sorrakowah ), and rohu ( Labeo rohita ). *Food Hydrocolloids*, 39, 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.008>

- Solari, A., & Córdova, J. S. (2015). *Extracción de colágeno proveniente de residuos del procesamiento de Engraulis ringens “anchoveta”* Extraction of collagen from wastes processing Engraulis ringens “anchovy.” *Ciencia e Investigación*, 18(2), 65–68.
- Sousa, R. (2010). *Obtención de gelatina utilizando cabezas de carpa común (Cyprinus carpio)*: Tesis de Maestría. Brasil., 1.
- Suárez, M. C., Garrido, C. N. A., & Guevara, R. C. A. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Aña de Azúcar*, 50(1m), 20–28.
- Tabarestani, H. S., Maghsoudlou, Y., Motamedzadegan, A., & Sadeghi Mahoonak, A. R. (2010). Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Bioresource Technology*, 101(15), 6207–6214. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.071>
- Torre, O. guido M. (2013). Obtencion de colageno y su efecto como capa protectora edible utilizando nisina como preservante en productos carnicos y quesos. *Universidad de Guayaquil*, 31(sup3.2), 425. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i0.529>
- Torres, A. W., Pacheco aguilar, R., Rouzaud sandez, O., & Ezquerria brauer, J. (2008). Caracterizacion Parcial Del Colageno Extraido a Partir Del Manto, Aleta Y Tentaculos De Calamar Gigante. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 6(2),101-108.[Fecha de Consulta, 108.
- Valenzuela, A. D. M. (2018). *Alimentación de alevinos de Orestias agassii y Orestias luteus a base de nauplios de artemia salina*. 77.
- Vela, F. E. (2013). *Química de los alimentos de pescado*. Universidad nacional de amazonas peruanas.
- Virrueta Chavez, J. J. (2018). *Determinación de los parámetros tecnológicos para la elaboración de un caldo deshidratado con dashi de carachi amarillo (orestias luteus) especie nativa del lago titicaca y muña (minthostachys mollis)*. (Tesis de Pregrado ) Universidad Nacional de San Agustín Requipa, 148.
- Wang, L., An, X., Yang, F., Xin, Z., Zhao, L., & Hu, Q. (2008). Isolation and characterisation of collagens from the skin, scale and bone of deep-sea redfish (*Sebastes mentella*). *Food Chemistry*, 108(2), 616–623. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.017>

## ANEXOS

### Anexo 1: Evaluación físico- organoléptico del pescado

**Tabla 17: Criterios de clasificación y valores asignados para pescado frescos**

VALOR	CARACTERISTICA
<b>Superficie y consistencia</b>	
4	Superficie lisa y brillante, color gris, mucilago claro y transparente: Consistente firme y elastica bajo la presion de los dedos. Las escamas permanecen firmes.
3	Superficie lisa y sin brillo, color gris palido, mucilago lechoso y opaco, consistencia un poco flacida y elasticidad disminuida. Las escamas se mantienen.
2	Superficie granulosa y sin brillo, mucilago denso de color gris opaco, o ligeramnete verdoso, consistencia relajada o flacida, escamas facilmente separables de la piel.
1	Superficie muy granulosa, color verdoso opaco o gris sucio; mucilago grumoso, turbio, amarillento o ausencia del mismo, de consistencia blanca, se queda impresa la huella de los dedos. Piel con poca presencia de escamas.
<b>Ojos</b>	
4	Globo ocular convexo y redondeado (en perfecto estado), cornea clara (transparente) y brillante, pupila negra oscura.
3	Globo ocular hundido, cornea opalescente; pupila opaca
2	Globo ocuar plano, cornea acuosa y turbia; pupila gris lechosa
1	Globo ocularcontraido, cornea turbia, pupila opaca, cubierta de mucilago turbio gris amarillento
<b>Branquias</b>	
4	Color rojo sanguineo; mucosa clara, transparencia y filamentosa.
3	Color rojo palido, mucosa opaca.
2	Color rojo grisaceo y acuoso, mucosa lechosa, turbia y densa.
1	Color sucio, marron rojiso: mucosa turbia gris y grumosa
<b>Cavidad abdominal y organos</b>	
4	Superficie de corte de los lobulos ventrales con coloracion natural (rojiza), sin decoloracion, lisa y brillante, peritoneo liso, brillante y muy firme, sangre de color rojo profundo, espinas ventrales firmes y ligadas a las paredes y al peritoneo.
3	Lobulos ventrales y superficie de corte de los lobulos ventrales suaves y sin brillo; Zona rojiza a lo largo de la espina dorsal, peritoneo liso hay un ligero desprendimiento de espinas ventrales cercana a la cavidad branquial. Sangre color rojo palido.
2	Superficie de corte de los lobulos ventrales amarillentos, peritoneo granuloso, aspero y separable del cuerpo. Hay desprendimiento parcial de espinas, sangre de color marron.
1	Superficie de corte de los lobulos ventrales turbios y pegajosos, peritoneo facilmente desagradable, la zona de los organos es grumosa, turbia y pastosa, hay desprendimiento total de espinas y la sangre es acuosa de color marron, sucio, con tono violeta.
<b>Olor</b>	
4	Olor a fresco, como a agua de rio.
3	Olor natural, pero fresco.
2	Olor ligeramente acido, parecido al de leche.
1	Olor a rancio

Las calidades seran

- Calidad Extra de 18 a 20 puntos
- Calidad buena de 15 a 17 puntos
- Calidad media de 10 a 14 puntos
- Calidad mala de 7 a 9 puntos
- Malogrado menor a 7 puntos

FUENTE: SANIPES (2012)

**Anexo 2: Fotografías de la extracción de colágeno a partir de escamas de carachi**



**Figura 17: Lavado de materia prima**



**Figura 18: Desescamado del pescado**



**Figura 19: Lavado de las escamas**



**Figura 20: Escamas seca de carachi**



**Figura 21: Pesado de las escamas**



**Figura 22: Preparación de reactivos**



**Figura 23: Hidrólisis a diferentes tiempos y concentraciones de NaOH**



**Figura 24: Neutralización con ácido acético**



**Figura 25: Medición del pH de las muestras**



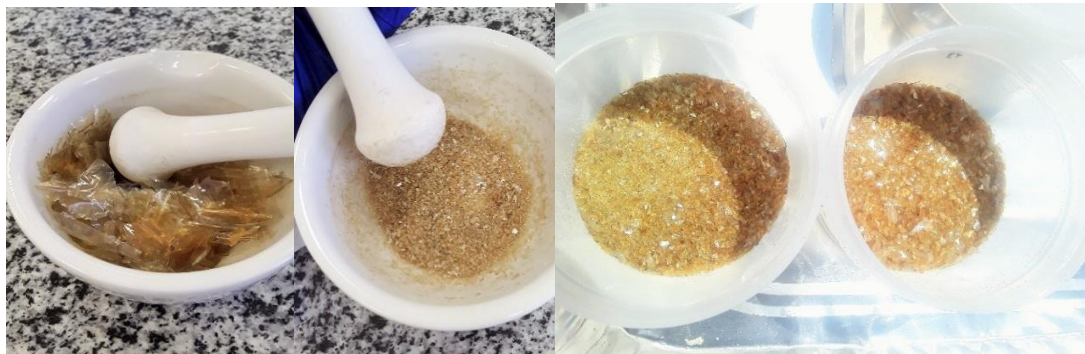
**Figura 26: Tratamiento térmico de colágeno a 60°C a 180 min**



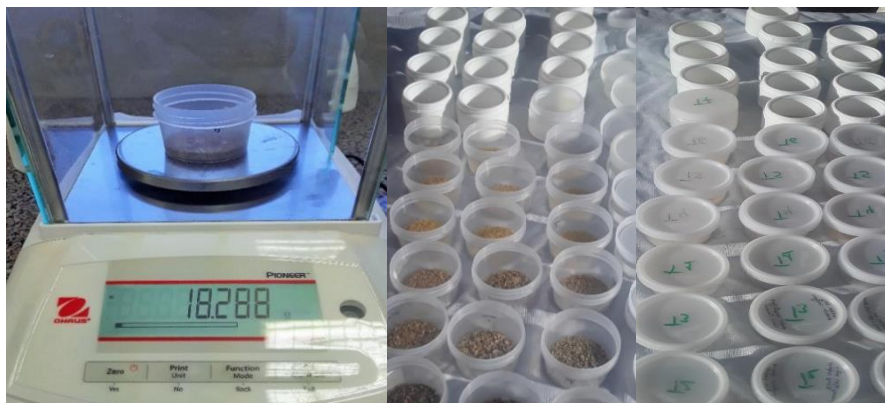
**Figura 27: Filtración del colágeno**



**Figura 28:** Secado del colágeno a 75°C por 12 horas



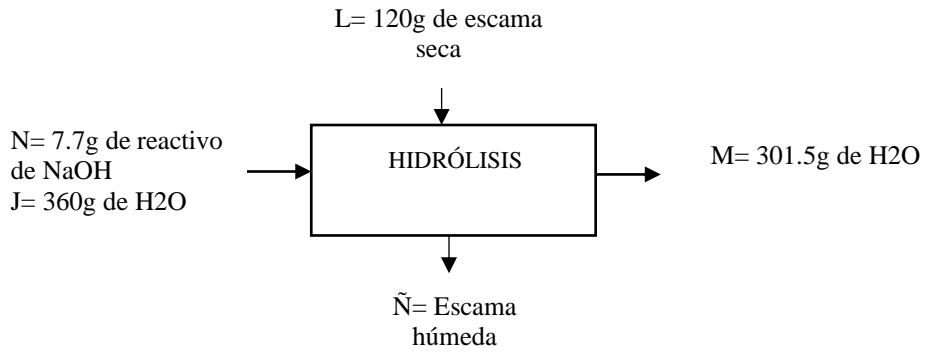
**Figura 29:** Molienda de la muestra de colágeno



**Figura 30:** Pesado y almacenamiento de las muestras de colágeno

### Anexo 3: Balance de materia de la obtención de colágeno por tratamiento

#### Hidrólisis



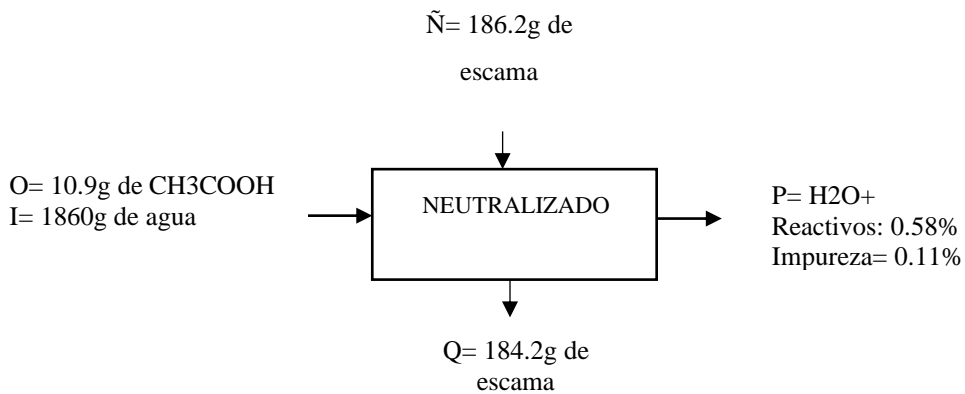
$$L + N + J = M + \tilde{N}$$

$$120g + 7.7g + 360g = 301.5g + \tilde{N}$$

$$\tilde{N} = 487.7g - 301.5g$$

$$\tilde{N} = 186.2g$$

#### Neutralización

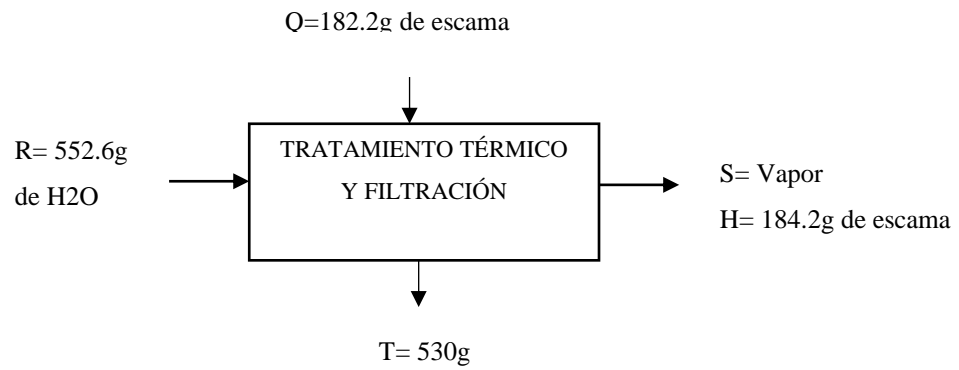


$$\tilde{N} + O + I = P + Q$$

$$186.2g + 10.9g + 1860g = P + 184.2g$$

$$P = 1872.9g$$

## Tratamiento térmico y filtración

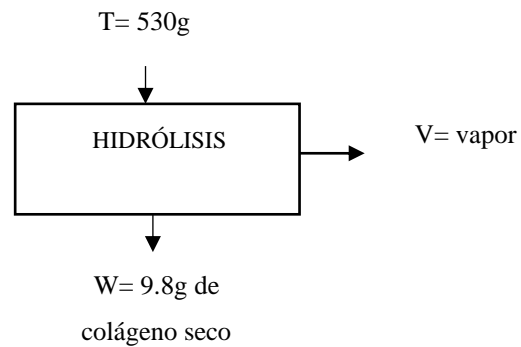


$$Q + R = S + H + T$$

$$184.2\text{g} + 552.6\text{g} = S + 184.2\text{g} + 530\text{g}$$

$$S = 206.8\text{g}$$

## Secado

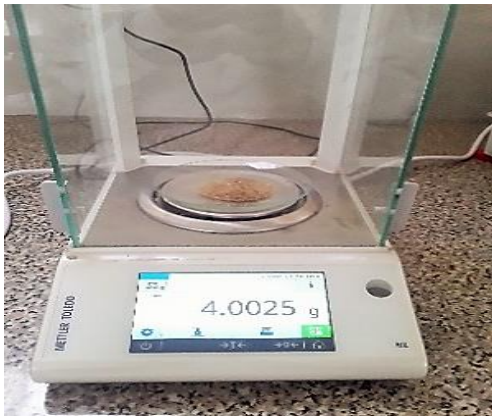


$$T = V + W$$

$$530\text{g} = V + 9.8\text{g}$$

$$V = 520.2\text{g}$$

#### Anexo 4: Fotografías de la determinación de fuerza gel



**Figura 31: Pesado del colágeno**



**Figura 32: Preparación de solución al 6.67% a 60°C**



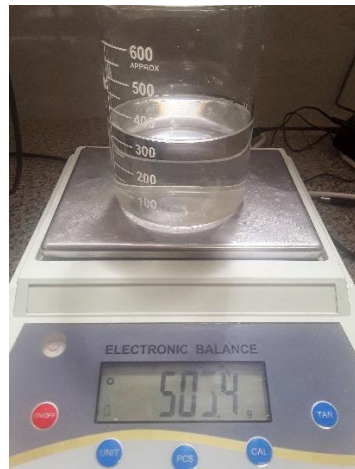
**Figura 33: Refrigerado del colágeno a 5.5°C hasta formar un gel**



**Figura 34: Dispositivo para medir fuerza gel**



**Figura 35: Medición de la fuerza gel del colágeno**



**Figura 36: Pesado de la cantidad de agua que soporto el gel**

## **Anexo 5: Método de caracterización físico química**

- **Determinación de humedad según el método de (AOAC, 2005)**

### **Procedimiento**

Se colocó las cápsulas destapadas durante una hora en la estufa a la temperatura de secado del producto. Posteriormente se utilizó una pinza para poder trasladar las capsulas a un desecador y lo dejamos enfriar durante 30 min, seguidamente pesamos las capsulas con sus respectivas tapas y registramos el peso que vendría a ser nuestra masa (m1) estas son rotulados para su identificación.

Se peso cinco (g) gramos de muestra previamente homogeneizada, con la que se registra masa dos (m2).

se colocó a la capsula debidamente tapadas a una temperatura y tiempo recomendado de 105 °C x 5 horas, consecuentemente sacamos de la estufa, luego se enfrió en un desecador por un tiempo de 30 a 45 min, si es posible repetimos el procedimiento por una hora más para no tener variación.

### **Cálculos**

La humedad del producto expresada en porcentaje es igual a:

$$\% \text{Humedad} = \frac{M2 - M3}{M2 - M1} * 100$$

Dónde:

M1: masa de la cápsula vacía y de su tapa, en gramos.

M2: masa de la cápsula tapada con la muestra antes del secado, en gramos.

M3: masa de la cápsula con tapa más la muestra desecada, en gramos.

- **Determinación de Cenizas según el método de la (AOAC, 2005)**

### **Procedimiento**

Se pesó con una precisión de un miligramo (mg) el crisol debe estar incinerado y tarado para obtener el peso del crisol.

Para evitar pérdidas de de muestra, se colocó el crisol y su contenido sobre una placa calefactora. Se llevó el crisol a la mufla (550 ±10°C) hasta que la sustancia se quemó completamente. Se pesó después de enfriarse a temperatura ambiente en un desecador.

### **Cálculos:**

El porcentaje del contenido en cenizas se da por la siguiente fórmula:

$$\% \text{Cenizas} = \frac{C1 - C2}{C} * 100$$

Dónde:

C1: Peso, en gramos, del crisol con las cenizas.

C2: Peso, en gramos, del crisol vacío.

C: Peso, en gramos, de la muestra.

### **• Determinación de la Proteína total**

Se realizó por el método de Kjeldahl, en el que se determinaron el porcentaje del nitrógeno total. Para ello utilizamos el factor de conversión 5.5 para poder determinar la proteína. Seguir la metodología

El porcentaje de nitrógeno se calcularon mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{V * N * 0.014 * 100}{m}$$

Donde:

V: Es el volumen del ácido clorhídrico empleado en la titulación en ml.

N: Es la normalidad del ácido clorhídrico.

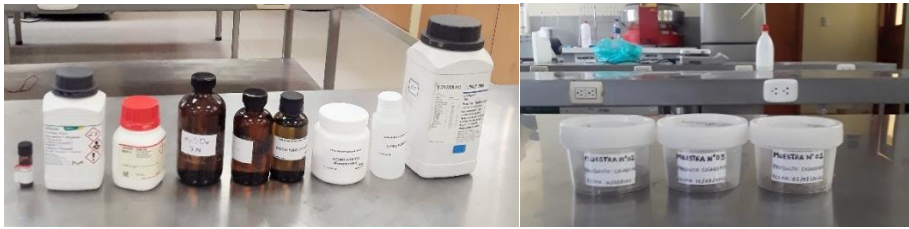
m: Es la masa de la muestra en g.

0.014: Es el mili equivalente de Nitrógeno.

Para el cálculo del porcentaje de proteína se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Proteínas} = \text{Nitrógeno} * 5,5$$

## Anexo 6: Fotografías de la determinación de hidroxiprolina



**Figura 37:** Reactivos y muestra a usar en la cuantificación de hidroxiprolina



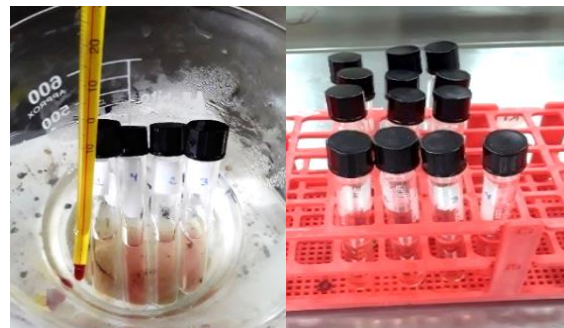
**Figura 38:** Preparación de la solución buffer y citrato



**Figura 39:** Acondicionamiento de las muestras



**Figura 40:** Solución oxidante y reactivo de color



**Figura 41:** Preparación de las muestras y reactivos



**Figura 42:** Medición de la absorbancia en espectrofotómetro

## Anexo 7: Cálculo para determinar la concentración de hidroxiprolina

- Ecuación de la recta

$$y = 0.233x + 0.0608$$

Y= absorbancia

X=concentración

$$R^2=0.9939$$

**Tabla 18: Absorbancia leída con el espectrofotómetro UV- VIS**

<b>Absorbancias</b>			
<b>Replicas</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T6</b>
r1	0.803	0.770	0.896
r2	0.804	0.772	0.897
r3	0.802	0.776	0.896

Despejando x de la ecuación de la recta, para la determinación de concentración de hidroxiprolina tenemos la siguiente ecuación.

$$x = \frac{y - 0.0608}{0.233}$$

$$x = \frac{0.896 - 0.0608}{0.233}$$

$$x = 3.58$$

**Tabla 19: Resultado de la concentración de hidroxiprolina**

---

<b>Concentración de hidroxiprolina</b>			
<b>Replica</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T6</b>
R1	3.185	3.044	3.585
R2	3.190	3.052	3.589
R3	3.181	3.070	3.585

---

$$\text{Porcentaje de hidroxiprolina} = \frac{x*d}{50*P}$$

Donde:

x: Viene a ser la cantidad de hidroxiprolina leída en la curva de patrón.

d: Es la dilución del filtrado realizado.

P: Es el peso inicial de la muestra

$$\% \text{ de hidroxiprolina} = \frac{3.585 * 200}{50 * 2}$$

$$\% \text{ de hidroxiprolina} = 7.17$$

**Tabla 20: Valores de hidroxiprolina**

---

<b>Porcentaje de hidroxiprolina</b>			
<b>Replicas</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T6</b>
R1	6.371	6.088	7.169
R2	6.379	6.105	7.178
R3	6.362	6.139	7.169

---

## Anexo 8: Resultados de Análisis de varianza del rendimiento

**Tabla 21: Análisis de varianza para rendimiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Concentración de NaOH	1.05536	1	1.05536	1589.66	0.0000
B: Tiempo de hidrólisis	0.131297	1	0.131297	197.77	0.0000
AA	0.0848004	1	0.0848004	127.73	0.0000
AB	0.790533	1	0.790533	1190.76	0.0000
BB	0.0705654	1	0.0705654	106.29	0.0000
bloques	0.0805389	2	0.0402694	60.66	0.0000
Falta de ajuste	1.56117	19	0.0821671	123.77	0.0000
Error puro	0.005975	9	0.000663889		
Total (corr.)	3.75449	35			

### Optimizar Respuesta

Meta: maximizar Rendimiento

Valor óptimo = **8.53949**

**Tabla 22: Valores óptimos de concentración y tiempo**

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Concentración de NaOH	0.258579	0.541421	0.541421
Tiempo de hidrólisis	4.75736	13.2426	4.75736

### La ecuación del modelo ajustado es:

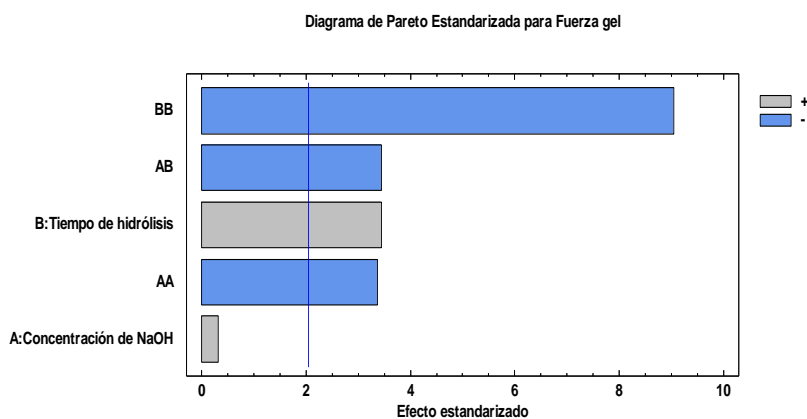
Rendimiento = 5.28289 + 4.48032\*Concentración de NaOH + 0.196318\*Tiempo de hidrólisis + 6.64584\*Concentración de NaOH<sup>2</sup> - 0.855556\*Concentración de NaOH\*Tiempo de hidrólisis + 0.00673606\*Tiempo de hidrólisis<sup>2</sup>.

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales

## Anexo 9: Resultados del Análisis de Varianza de fuerza gel

**Tabla 23: Análisis de Varianza para fuerza gel**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Concentración de NaOH	33.8053	1	33.8053	0.10	0.7575
B: Tiempo de hidrólisis	4103.16	1	4103.16	11.80	0.0019
AA	3933.06	1	3933.06	11.31	0.0022
AB	4113.66	1	4113.66	11.83	0.0018
BB	28480.3	1	28480.3	81.93	0.0000
bloques	1.35577	2	0.677886	0.00	0.9981
Error total	9733.28	28	347.617		
Total (corr.)	47339.5	35			



Meta: maximizar Fuerza gel

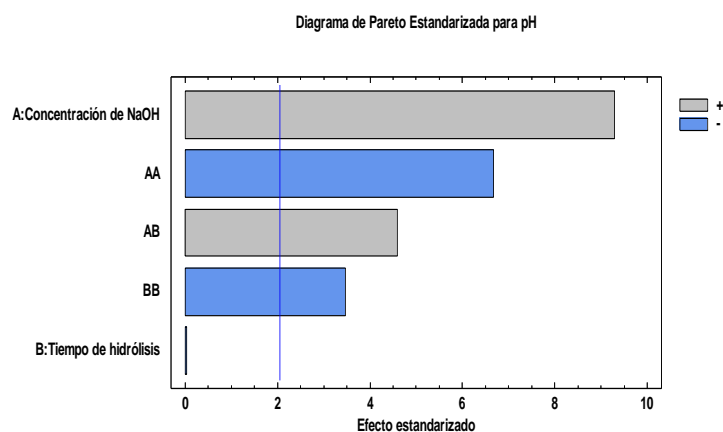
Valor óptimo = 501.381

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Concentración de NaOH	0.258579	0.541421	0.39187
Tiempo de hidrólisis	4.75736	13.2426	9.56753

## Anexo 10: Resultados del Análisis de Varianza del pH

**Tabla 24: Análisis de Varianza para pH**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Concentración de NaOH	0.594031	1	0.594031	86.27	0.0000
B: Tiempo de hidrolisis	0.00000656893	1	0.00000656893	0.00	0.9756
AA	0.30704	1	0.30704	44.59	0.0000
AB	0.1452	1	0.1452	21.09	0.0001
BB	0.0826861	1	0.0826861	12.01	0.0017
bloques	0.00228889	2	0.00114444	0.17	0.8477
Error total	0.192796	28	0.00688557		
Total (corr.)	1.2739	35			



Meta: maximizar pH

Valor óptimo = 7.3899

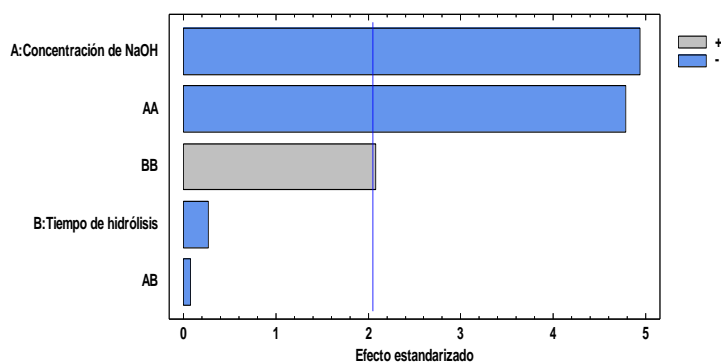
Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Concentración de NaOH	0.258579	0.541421	0.497604
Tiempo de hidrólisis	4.75736	13.2426	11.4442

## Anexo 11: Resultados del Análisis de Varianza de humedad

**Tabla 25: Análisis de Varianza para humedad**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Concentración de NaOH	11.0656	1	11.0656	24.37	0.0000
B: Tiempo de hidrólisis	0.0337724	1	0.0337724	0.07	0.7871
AA	10.39	1	10.39	22.88	0.0001
AB	0.00300833	1	0.00300833	0.01	0.9357
BB	1.95845	1	1.95845	4.31	0.0471
bloques	0.000716667	2	0.000358333	0.00	0.9992
Error total	12.7128	28	0.454028		
Total (corr.)	38.5583	35			

Diagrama de Pareto Estandarizada para Humedad



### Optimizar Respuesta

Meta: minimizar Humedad

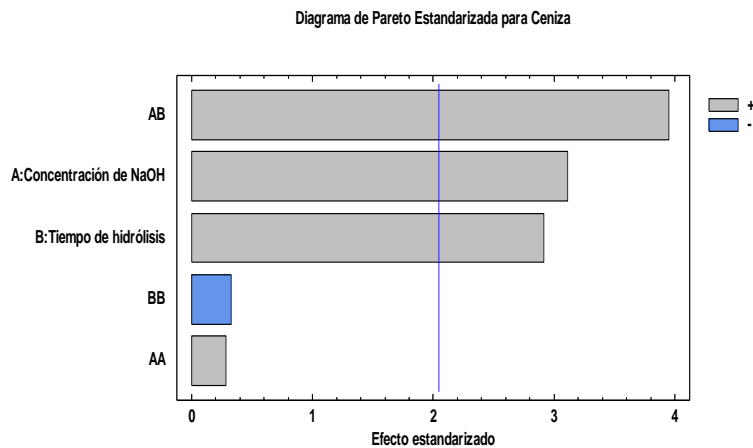
Valor óptimo = 95.6282

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Concentración de NaOH	0.258579	0.541421	0.541421
Tiempo de hidrólisis	4.75736	13.2426	9.28357

## Anexo 12: Resultados del Análisis de Varianza de ceniza

**Tabla 26: Análisis de Varianza para ceniza**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Concentración de NaOH	0.152891	1	0.152891	9.67	0.0043
B: Tiempo de hidrólisis	0.134274	1	0.134274	8.49	0.0069
AA	0.00126765	1	0.00126765	0.08	0.7792
AB	0.246533	1	0.246533	15.59	0.0005
BB	0.00168699	1	0.00168699	0.11	0.7464
bloques	0.000466667	2	0.000233333	0.01	0.9854
Error total	0.442822	28	0.0158151		
Total (corr.)	0.980675	35			



**Valor óptimo** = -0.0562563

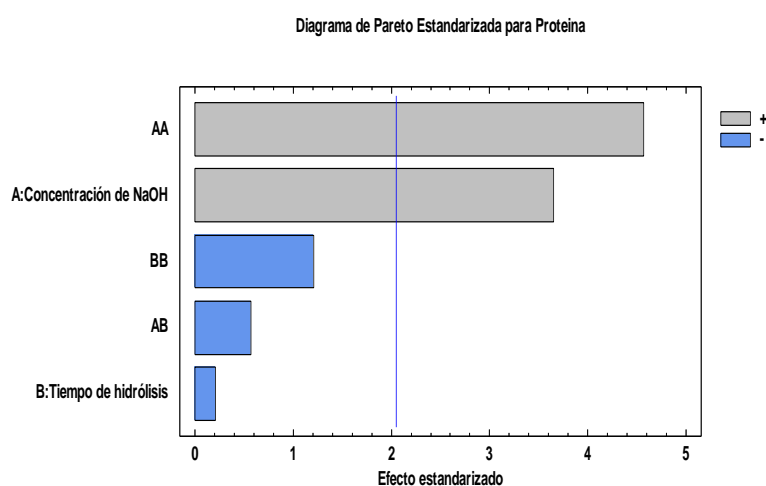
Meta: minimizar la ceniza

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Concentración de NaOH	0.258579	0.541421	0.258579
Tiempo de hidrólisis	4.75736	13.2426	13.2426

### Anexo 13: Resultados del análisis de varianza de la proteína

**Tabla 27: Análisis de Varianza para proteína**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Concentración de NaOH	6.78934	1	6.78934	13.35	0.0011
B: Tiempo de hidrolisis	0.0229033	1	0.0229033	0.05	0.8335
AA	10.6148	1	10.6148	20.87	0.0001
AB	0.168033	1	0.168033	0.33	0.5701
BB	0.747376	1	0.747376	1.47	0.2356
bloques	0.00101667	2	0.000508333	0.00	0.9990
Error total	14.2445	28	0.508731		
Total (corr.)	34.2349	35			



Meta: maximizar Proteína

Valor óptimo = 3.78739

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Concentración de NaOH	0.258579	0.541421	0.541421
Tiempo de hidrólisis	4.75736	13.2426	7.49363

## Anexo 14: Resultados del ANOVA de la hidroxiprolina

**Tabla 28: ANOVA para hidroxiprolina % por tratamiento**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	1.83616	2	0.918082	3559.99	0.0000
Intra grupos	0.00154733	6	0.00025788		
Total (Corr.)	1.83771	8	9		

**Tabla de Medias para Hidroxiprolina por Tratamiento con intervalos de confianza del 95.0%**

<b>Tratamiento</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Error Est. (s agrupada)</b>	<b>Límite Inferior</b>	<b>Límite Superior</b>
T2	3	6.37067	0.00927162	6.35055	6.39078
T3	3	6.11067	0.00927162	6.09055	6.13078
T6	3	7.172	0.00927162	7.15188	7.19212
Total	9	6.55111			

### Pruebas de Múltiple Rangos para Hidroxiprolina % por Tratamiento

**Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD**

<b>Tratamiento</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
T3	3	6.11067	X
T2	3	6.37067	X
T6	3	7.172	X

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
T2 - T3	*	0.26	0.0320841
T2 - T6	*	-0.801333	0.0320841
T3 - T6	*	-1.06133	0.0320841

\* indica una diferencia significativa.

## **Anexo 15: Procedimiento de análisis microbiológica según DIGESA**

Se realizo con materiales debidamente esterilizadas, en un ambiente limpio, desinfectado y con los protocolos de bioseguridad, se procedió a preparar las diluciones de las muestras para su respectivo análisis.

### **Preparación de la muestra para su análisis**

Para preparar la muestra se realizó la dilución de 1:10 cuya mezcla fue la solución madre y de esta primera dilución se trasfiere 1ml a un tubo que contine 9 ml de agua de dilución tapamos para agitar y de esa manera hemos obtenido la solución 1: 100, posteriormente de la solución anterior tomamos 1 ml a otro tubo que contiene 9 ml de agua peptonada mezclamos bien y tenemos una dilución de 1:1000

De esa forma se obtiene las diluciones decimales a concentraciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , eso nos sirvió para todos los análisis microbiológicos.

### **Numeración de bacterias coliformes – Método de recuento en placa**

#### **Procedimiento**

Para realizar el cultivo se adiciono a cada placa de petri, 10-15 ml de agar Violeta rojo Bilis a temperatura a 44-46°C, seguidamente mezclamos el contenido de las placas mediante movimientos y rotación para cada placa y dejamos que se solidifique la mezcla durante aproximadamente 10 min, seguido a ello distribuimos 10 ml de medio de plaqueado como doble placa, cubriendo por completo la superficie del medio solidificado, el cual inhibió la formación de colonias en la superficie. Invertir e incubar la placa durante 24 horas a 35-37°C

Se lectura exclusivamente las colonias de color rojo oscuro con un diámetro de 0.5mm o en placas, siempre y cuando contuvieran entre 20 y 200 colonias, para así considerarlas como bacterias coliformes. Fue posible seleccionar solo las placas que tenían más de 150 de estas colonias. Se multiplicó el número de colonias por la dilución correspondiente para obtener así el número de bacterias coliformes por gramo o ml de muestra

## **Método de recuento en placa para análisis de *Staphylococcus Aureus***

### **Procedimiento**

De la muestra homogenizada se transfirió 0.1 ml de sus diluciones a la superficie del medio agar Baird Parker en placas (secas) y se extendió el inóculo con un asa estéril, se tapó la placa y dejamos que sea adsorbido por el medio durante 15 min a temperatura ambiente, el procedimiento se realiza por triplicado.

Posteriormente se llevó a la incubación de la placa a 35°C durante 30 a 48 horas.

Pasado ese tiempo se realizó el recuento con la ayuda de un contador de colonias.

## **Método de recuento en placa de Moho y levaduras**

### **Procedimiento**

Primeramente, se ha mezclado en placa de 10 a 15ml de Agar Papa dextrosa fundida a temperaturas de 44°C – 46°C esta preparación se realizó con tiempos que no superen los 20 min, la metodología sugiere que se realice lo más rápido posible mejor si en tiempos menores de 10 min.

Seguidamente se ha mezclado el inóculo con asa fundida de forma inclinada y una vez realizado el procedimiento tapar y dejar solidificar. Seguido a ello se incubarlas a 22-24°C durante 3 a 5 días.

Posterior a ello su recuento se realizó con la ayuda de un contador de colonias para poder identificar las colonias de levadura

## Anexo 16: Análisis fisicoquímico del colágeno



PERÚ Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego



### CERTIFICADO DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO N°171 GLCM/22

SOLICITANTE : GAVY LILYAN CUELA MAMANI  
 PROCEDENCIA : UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA  
 INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS  
 TITULO DEL PROYECTO : "APROVECHAMIENTO DE LAS ESCAMAS DE CARACHI  
 AMARILLO (*Orestias luteus*) PARA LA OBTENCIÓN DE  
 COLÁGENO Y SU CARACTERIZACIÓN"  
 CANTIDAD : 12 MUESTRAS  
 ANÁLISIS SOLICITADO : CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICAS  
 FECHA DE RECEPCIÓN : 09-06-2022  
 FECHA DE ENSAYO : 10-06-2022  
 FECHA DE EMISIÓN : 08-07-2022

#### RESULTADOS:

De acuerdo al Informe de los Análisis de Laboratorio que obra en los archivos los resultados son:

#### DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS:

MUESTRA	HUMEDAD %			CENIZA %			PROTEÍNA %			pH		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
T1	97.89	97.96	97.99	0.16	0.18	0.15	1.88	1.89	1.86	6.96	6.98	6.99
T2	97.91	97.87	97.99	0.17	0.17	0.17	1.82	1.85	1.84	7.13	7.26	7.28
T3	98.07	98.02	98.01	0.18	0.20	0.19	1.77	1.79	1.78	6.82	6.83	6.84
T4	97.98	97.89	97.97	0.76	0.78	0.77	1.25	1.28	1.27	7.51	7.52	7.52
T5	98.15	98.18	98.14	0.17	0.15	0.14	1.64	1.63	1.65	6.92	6.93	6.94
T6	94.39	94.41	94.38	0.18	0.20	0.19	5.03	5.05	5.04	7.15	7.16	7.17
T7	98.52	98.55	98.52	0.15	0.14	0.15	1.32	1.30	1.31	7.21	7.23	7.22
T8	98.25	98.23	98.24	0.11	0.13	0.14	1.59	1.61	1.62	7.12	7.11	7.11
T9	98.06	98.05	98.04	0.25	0.26	0.23	1.50	1.52	1.49	7.30	7.33	7.32
T10	98.06	98.05	98.07	0.25	0.24	0.25	1.51	1.49	1.52	7.32	7.32	7.33
T11	98.08	98.09	98.06	0.23	0.24	0.22	1.48	1.50	1.51	7.34	7.31	7.29
T12	98.05	98.06	98.08	0.24	0.24	0.23	1.47	1.49	1.5	7.31	7.29	7.3

#### LEYENDA:

R: Repetición  
 T: Tratamiento

#### MÉTODOS USADOS EN EL LABORATORIO:

- Contenido de humedad (método AOAC. 2002).
- Contenido de ceniza (método AOAC 2000).
- Contenido de proteína (método kjeldahl).
- pH (NTP-ISO 2917 20)

**CONCLUSIÓN:** Los resultados Físico Químicos están conformes.



INIA  
 ESTACIÓN EXPERIMENTAL ILLPA - PUNO

Ing° JORGE CANHUA ROJAS  
 Jefe Laboratorio Análisis  
 SALCEDO

Rinconada de Salcedo s/n  
 Puno. Puno. Perú  
 T: (051) 363-812

www.inia.gob.pe

## Anexo 17: Análisis microbiológico del colágeno



PERÚ Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego



Instituto Nacional de Innovación Agraria

### CERTIFICADO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO N°218 GLCM/22

SOLICITANTE : GAVY LILYAN CUELA MAMANI  
 PROCEDENCIA : UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA  
 INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS  
 TITULO DEL PROYECTO : "APROVECHAMIENTO DE LAS ESCAMAS DE CARACHI  
 AMARILLO (*Orestias luteus*) PARA LA OBTENCIÓN DE  
 COLÁGENO Y SU CARACTERIZACIÓN"  
 MUESTRA : COLAGENO  
 CANTIDAD : 03 MUESTRAS  
 ANÁLISIS SOLICITADO : MICROBIOLÓGICO  
 FECHA DE RECEPCIÓN : 10-08-2022  
 FECHA DE ENSAYO : 10-08-2022  
 FECHA DE EMISIÓN : 26-08-2022

#### RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO:

Agente Microbiano	MUESTRA N°1			Limite por g	
	R-1	R-2	R-3	m	M
Coliformes Totales (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>
Staphylococcus aureus (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>
Mohos (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>
Levaduras (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>

UFC/g =Expresado en unidades Formadoras de colonia por g.

Agente Microbiano	MUESTRA N°2			Limite por g	
	R-1	R-2	R-3	m	M
Coliformes Totales (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>
Staphylococcus aureus (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>
Mohos (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>
Levaduras (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>

UFC/g =Expresado en unidades Formadoras de colonia por g.

Agente Microbiano	MUESTRA N°3			Limite por g	
	R-1	R-2	R-3	m	M
Coliformes Totales (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>
Staphylococcus aureus (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>
Mohos (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>
Levaduras (UFC/g)	<10	<10	<10	10	10 <sup>2</sup>

UFC/g =Expresado en unidades Formadoras de colonia por g.

#### CONCLUSIÓN:

La muestra analizada se encuentra dentro de los límites establecidos según, (\*) R.M. N°591-2008-MINSA "Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano" (CriterioV.1) El producto analizado se encuentra dentro de los límites establecidos.

Puno, 26 de agosto del 2022



INIA  
 ESTACIÓN EXPERIMENTAL ILLPA - PUNO  
 Ing° JORGE CANIHUA ROJAS  
 Jefe Laboratorio Análisis  
 SALCEDO

www.inia.gob.pe

Rinconada de Salcedo s/n  
 Puno. Puno. Perú  
 T: (051) 363-812

## Anexo 18: Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos

### Resolución ministerial N°591/2008/MINSA

NTS N° 071 - MINSA/DIGESA-V.01

NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
Coliformes	5	3	5	2	10	10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
<b>III. PRODUCTOS GRASOS.</b>						
<b>III.1 Mantequillas y margarinas.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
Coliformes	4	3	5	3	10	10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<b>IV. PRODUCTOS DESHIDRATADOS: LIOFILIZADOS O CONCENTRADOS Y MEZCLAS.</b>						
<b>IV.1 Sopas, caldos, cremas, salsas y puré de papas de uso instantáneo que no requieren cocción.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	7	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Clostridium perfringens</i> (*)	8	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	----
Mohos	3	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
(*) Sólo para productos que contengan carnes.						
<b>IV.2 Sopas, cremas, salsas y purés de legumbres u otros deshidratados que requieren cocción.</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	3	3	5	1	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>
Coliformes	4	3	5	3	10	10 <sup>2</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	7	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Clostridium perfringens</i> (*)	8	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	----
(*) Solo para productos que contengan carnes.						
<b>IV.3 Mezclas en seco de uso instantáneo (refrescos, gelatinas, jaleas, cremas, otros).</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
<i>Bacillus cereus</i> (*)	7	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella sp.</i> (**)	10	2	5	0	Ausencia /25 g	----
Mohos	3	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
(*) Sólo para productos que contengan cereales.						
(**) Sólo para productos que contengan leche, cacao y/o huevo.						
<b>IV.4 Mezclas en seco que requieren cocción (pudines, flanes, otros).</b>						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>



HERNANDEZ C



C. Reyes J.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA**

*"Universidad Pública de Calidad"*