



UNAP



**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA**

TESIS

**EXTRACCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR DE ESCAMAS DE PECES DE
RÍO POR HIDRÓLISIS MIXTA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADA EN BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA**

PRESENTADO POR:

MAYRA ABIGAIL AIBAR INCHAUSTEGUI

ASESORES:

Blga. JESSY PATRICIA VÁSQUEZ CHUMBE, Mgr.

Lic. MIRIAM RUTH ALVA ÁNGULO, Mgr.

IQUITOS, PERÚ

2023

ACTA DE SUSTENTACIÓN



FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Escuela Profesional de
Bromatología y Nutrición Humana

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 03-CGT-FIA-UNAP-2023

A los 21 días del mes de marzo de 2023, a horas 18:00, en las instalaciones del laboratorio de ingeniería, ubicado en la Planta Piloto, sito Av. Freyre N° 610, dando inicio a la sustentación pública de la Tesis titulada: "EXTRACCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR DE ESCAMAS DE PECES DE RÍO POR HIDROLISIS MIXTA", presentado por la Bachiller **MAYRA ABIGAIL AIBAR INCHAUSTEGUI**, para optar el Título Profesional de Licenciado (a) en Bromatología y Nutrición Humana, que otorga la Universidad de acuerdo a Ley y Estatuto.

El Jurado Calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N° 0113-FIA-UNAP-2023 del 03 de marzo de 2023, está integrado por:


Ing. **CARLOS ANTONIO LI LOO KUNG, Dr.**
Ing. **GABRIEL EMILIO VARGAS ARANA, Dr.**
Lic. **JOE FERNANDO GERONIMO HUETE, Mgr.**

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: satisfactoriamente

El Jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública y la tesis ha sido: Aprobada con la calificación Muy Buena

Estando el(la) bachiller apto(a) para obtener el Título Profesional de Licenciado(a) en Bromatología y Nutrición Humana, Siendo las 19:00 se dio por terminado el acto de sustentación.




Presidente
Ing. **CARLOS ANTONIO LI LOO KUNG, Dr.**
CIP: 75104



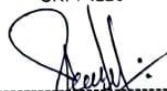
Miembro
Ing. **GABRIEL EMILIO VARGAS ARANA, Dr.**
CIP: 147224



Asesora
Blga. **JESSY PATRICIA VASQUEZ CHUMBE, Mtra.**
CBP: 2584



Miembro
Lic. **JOE FERNANDO GERONIMO HUETE, Mgr.**
CNP: 4220



Asesora
Lic. **MIRIAM RUTH L'ALVA ANGULO, Mgr.**
CNP: 130

JURADO Y ASESORES

JURADO Y ASESORES

TESIS APROBADA EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA, EN LA FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA, EL DÍA 21 DEL MES DE MARZO DEL AÑO 2023, POR EL JURADO CALIFICADOR CONFORMADO POR:



Presidente
Ing. CARLOS ANTONIO LI LOO KUNG, Dr.
CIP: 75104



Miembro
Ing. GABRIEL EMILIO VARGAS ARANA, Dr.
CIP: 147224



Miembro
Lic. JOE FERNANDO GERONIMO HUETE, Mgr.
CNP: 4220



Asesora
Blga. JESSY PATRICIA VASQUÉZ CHUMBE, Mtra.
CBP: 2584



Asesora
Lic. MIRIAM RUTH ALVA ANGULO, Mgr.
CNP: 130

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILUTD

Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO	AUTOR
FIA_TESIS_AIBAR INCHAUSTEGUI MAYR A ABIGAIL.pdf	MAYRA ABIGAIL AIBAR INCHAUSTEGUI

RECuento DE PALABRAS	RECuento DE CARACTERES
11945 Words	63000 Characters

RECuento DE PÁGINAS	TAMAÑO DEL ARCHIVO
51 Pages	2.0MB

FECHA DE ENTREGA	FECHA DEL INFORME
Apr 12, 2023 9:42 AM GMT-5	Apr 12, 2023 9:42 AM GMT-5

● 10% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 8% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 4% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

DEDICATORIA

A Dios por siempre estar conmigo, cuidar y guiar mi camino durante todo. De forma especial a mis padres Pablo Aibar, Luz Inchaustegui quienes me brindan su apoyo incondicional en todo momento, siempre están empujándome para salir adelante, me educaron en buenos valores y por aconsejarme a siempre dar lo mejor de mí en todos los aspectos de la vida. A mi hermana Yessenia Aibar, mi compañera de vida, la que siempre está a mi lado celebrando los logros y buenos momentos, así mismo como dándome soporte en los malos.

Solo Dios sabe lo mucho que los amo y lo agradecida que estoy con la vida de tenerlos conmigo.

MAYRA ABIGAIL AIBAR INCHAUSTEGUI

AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento a la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, a través del Vicerrectorado de Investigación por el financiamiento del proyecto “Extracción y caracterización de colágeno a partir de escamas de peces amazónicos provenientes de río con potencial uso nutracéutico” aprobado por Resolución Rectoral N°1151-2020-UNAP, que me permitió desarrollar esta investigación.

De manera especial a mis Asesores Blga. Jessy Patricia Vásquez Chumbe, al Lic. Alexander Javier Iman Torres y Lic. Miriam Alva Ángulo quienes me guiaron para seguir adelante, dándome todo su apoyo incondicional en la asesoría de este proyecto de investigación.

Al Dr. Gabriel Vargas Arana por brindarnos acceso a su Laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigación de la Amazonía Peruana (IIAP) y apoyarnos con el uso de sus equipos (centrifuga refrigerada y Liofilizador) esenciales para el cumplimiento de dos etapas del proceso de extracción. Asimismo, a la Dra. Viviana Pinedo Cancino, por permitir el ingreso al Laboratorio de Bioensayos y Cultivo de Células del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la UNAP (CIRNA), para utilización de la centrífuga refrigerada, crucial para el proceso de extracción.

A la Ing. Klaramelia Ramón Carpio, Doctorando de la Universidad Federal del Amazonas (UFAM), por contribuir con sus conocimientos y experiencia en el desarrollo de la investigación y su desinteresado apoyo en la preparación de tesis y practicantes.

A la Lic. Marleny Barahona mi jefa del Trabajo quien me ayudó con mis horarios de trabajo para dedicarme a realizar mi tesis.

A mis amigos Diego y Fiorella, que sin su ayuda a mi persona no hubiera sido posible la culminación de esta investigación. No puedo quedar sin Agradecer a mi familia quienes me dieron todo el soporte económico y emocional para avanzar y terminar mi investigación.

¡Totalmente agradecida!

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
JURADO Y ASESORES	iii
RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
INDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURA	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Bases Teóricas	8
1.3 Definición De Términos Básicos	24
CAPITULO II: HIPOTESIS Y VARIABLES	25
2.1 Hipótesis	25
3.1 Variables y su operacionalización	26
CAPITULO III: METODOLOGÍA	27
4.1 Diseño metodológico	27
4.2 Diseño experimental	27
4.3 Diseño muestral	28
4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos	29
4.5 Procedimientos experimentales	29
4.6 Procesamiento y análisis de datos	34
4.7 Aspectos éticos	34
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	35
4.1 Caracterización de la materia prima	35

4.2 Extracción de colágeno	39
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	44
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	48
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	49
CAPÍTULO VIII: BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXOS	62

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tipos de colágeno	13
Tabla 2: Experimentos a realizar para la optimización de la extracción de colágeno obtenido a partir de escamas de peces amazónicos	27
Tabla 3: Análisis proximal de las escamas de boquichico y lisa	37
Tabla 4: Análisis microbiológico de las escamas de boquichico y lisa	39
Tabla 5: rendimiento de extracción de colágeno de boquichico y lisa	39
Tabla 6: Optimización de la extracción de colágeno de escamas de boquichico y lisa	40
Tabla 7: análisis FTIR de colágeno de escama de peces de agua dulce y colágeno padrón	42

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1: Boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>)	8
Figura 2: Lisa (<i>Megaleporinus trifasciatus</i>)	9
Figura 3: escamas de lisa y boquichico	10
Figura 4: colágeno de escama de peces amazónicos.	12
Figura 5: Componente básico en el espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier.	22
Figura 6: Flujograma de extracción de colágeno a partir de escamas de peces de río	32
Figura 7: Análisis sensorial (frescura) de <i>Prochilodus nigricans</i> (boquichico).	35
Figura 8: Análisis sensorial (frescura) de <i>Megaleporinus trifasciatus</i> (lisa).	36
Figura 9: Porcentajes del análisis de la composición centesimal de escamas de peces de río.	38
Figura 10: Porcentajes de rendimiento de colágeno extraído a partir de escamas de peces de río.	40
Figura 11: Porcentajes de proteínas de los procesos de extracción	41
Figura 12: análisis FT-IR de colágeno padrón.	43
Figura 13: análisis FT-IR de colágeno extraído de escamas de peces de agua dulce.	43

RESUMEN

La amazonia y la gran biodiversidad que posee, hace que la industria y academia busquen estrategias para sacar al mercado productos beneficiosos para la salud del ser humano. Una de las actividades que más contribuyen a la economía local de nuestra zona es la pesca artesanal, y genera residuos como piel, escamas, espinas, etc., que no son usados provechosamente. En ese sentido la investigación, pretendió extraer colágeno tipo I a partir de escamas de *Prochilodus nigricans* (Boquichico), y *Megaleporinus trifasciatus* (Lisa), con el fin de darle un valor agregado a los desechos generados, disminuyendo la contaminación ambiental, y dando una fuente para el desarrollo de productos nutraceuticos. El estudio fue de tipo experimental, se utilizó un diseño factorial con niveles, aplicando un diseño completamente al azar (DCA). La extracción se dio por hidrólisis mixta, utilizando ácido acético y pepsina a temperaturas de 15 y 20 °C para la extracción. El colágeno obtenido fue caracterizado por el contenido de proteínas y espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier – FTIR. Los resultados dicen, que el colágeno extraído a partir de escamas de Lisa a temperatura de 15°C tiene el mayor porcentaje de proteína de $26,68 \pm 1,08\%$. Al analizar la estructura del colágeno, mediante el FT-IR, los datos de las bandas detectadas del colágeno de escamas de peces de río, coinciden con los datos de la muestra padrón, bandas de absorción que corresponde al enlace peptídico característico de colágeno tipo I. Concluyendo que es posible extraer colágeno tipo I a partir de escamas de especies hidrobiológicas amazónicas, para su posterior aplicación en la industria, medica, farmacéutica y alimentaria.

Palabras clave: colágeno tipo I, escamas, peces de río, FTIR, proteínas, bandas de absorción.

ABSTRACT

The Amazon and the great biodiversity it possesses, makes industry and academia look for strategies to bring beneficial products to the market for human health. Artisanal fishing is one of the main economic activities in our region, and generates waste such as skin, scales, bones, etc., which are not used profitably. In this sense, the research sought to extract type I collagen from scales of *Prochilodus nigricans* (Boquichico), and *Megaleporinus trifasciatus* (Lisa), in order to give added value to the waste generated, reducing environmental pollution, and giving a source for the development of nutraceutical products. The study was of an experimental type, a factorial design with levels was used, applying a completely randomized design (DCA). Extraction was by mixed hydrolysis, using acetic acid and pepsin at temperatures of 15 and 20 °C for extraction. The collagen obtained was characterized by protein content and Fourier transform infrared spectrophotometry – FTIR. The results show that the collagen extracted from Lisa scales at a temperature of 15°C has the highest protein percentage of $26.68 \pm 1.08\%$. When analyzing the structure of collagen, by means of FT-IR, the data of the detected bands of collagen from river fish scales coincide with the data of the standard sample, absorption bands that correspond to the characteristic peptide bond of type I collagen. Concluding that it is possible to extract collagen type I from flakes of Amazonian hydrobiological species, for its subsequent application in the medical, pharmaceutical and food industry.

Keywords: type I collagen, scales, river fish, FTIR, proteins, absorption bands.

INTRODUCCIÓN

La Amazonía Peruana es reconocida a nivel mundial por contar con una inmensa biodiversidad tanto en flora como en fauna silvestre, hasta la actualidad ha venido ayudando a la subsistencia del poblador amazónico, siendo de vital importancia debido a que forma parte de las actividades económicas y de alimentación, especialmente en países en desarrollo como el nuestro, que dependen directa o indirectamente de ella (1).

Asimismo, la pesca ocupa un lugar importante en las actividades sociales y económicas de la región Loreto, sustenta casi el 90% de la dieta de las diferentes poblaciones ribereñas siendo este su principal fuente de proteína animal, la pesca de subsistencia abarca aproximadamente el 75% a nivel familiar en pequeñas embarcaciones (canoas) y e indumentaria sencilla (flechas, anzuelos, atarrayas) y la pesca comercial aproximadamente el 25% usa embarcaciones de mayor tamaño con equipos mucho más sofisticado (2). En Loreto el consumo per cápita de pescado en kg fue de 51.6 al 2014 (3). Según el ex presidente del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) Luis Campos Baca la población amazónica en el año 2018 consumió un promedio de 80 mil toneladas de pescado (4).

Tan solo el consumo y la venta de pescados al por menor traen consigo una gran cantidad de residuos como la cola, las escamas, las aletas. Estos desechos van directo a la basura convirtiéndose en un gran foco de contaminación ambiental. Dichos desperdicios debido al alto contenido proteico y su completa composición de aminoácidos esenciales (5) pueden ser utilizados para futuros procesos industriales para el ámbito biomédico y cosmético tales como: la obtención de colágeno, hidrolizados de gelatina, harinas, alimentos funcionales para promoción de la salud, formular alimentos de consumo animal, suplementos etc. (6).

Las escamas en su superficie tienen una capa ósea que consta aleatoriamente de fibrillas de colágeno (6), demostrando que el en el pescado, no solo se encuentra en la piel y huesos, sino que gran parte se encuentra en las escamas (7). Por tal motivo, el desarrollo de este trabajo de investigación, brindará datos sobre el proceso de extracción de colágeno de

escamas de peces de agua dulce, a través de una metodología experimental, dicho esto considero que de esta forma se puede generar un mayor valor a la cadena productiva pesquera. Adicional a esto, el aislamiento y la estandarización de parámetros para la producción de estas nuevas sustancias con esta materia prima, permitirán el desarrollo y mejoramiento de las industrias como la farmacéutica, alimentaria y la de productos cosméticos. En tal sentido la presente investigación propone centrarse en la obtención de colágeno tipo I a partir de escamas de peces amazónicos que provienen de ríos de la amazonia peruana, utilizando hidrolisis Mixta (ácida y enzimática) a temperaturas de 15°C y 20°C como parámetros de extracción, asimismo la identificación del tipo de colágeno mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

CAPITULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

Chen et al. (8), en el 2022, en China, desarrollaron un estudio con el objetivo de caracterizar composicional y estructuralmente colágeno tipo I soluble en pepsina de las escamas de corvina roja (*Sciaenops ocellatus*). El colágeno soluble en pepsina tipo I (PSC tipo I) se purificó con éxito mediante ultrafiltración hidrofílica (UF). El proceso de purificación de colágeno fue evaluado por análisis SDS-PAGE, mediante análisis proteómico y secuenciación Isoform (Iso-Seq), se confirmó que se trataba de la PSC tipo I, que contenía cadenas de colágeno $\alpha 1$ y $\alpha 2$ como componentes individuales, con ausencia de otras proteínas. Se verificó que el PSC tipo I eran monómeros de colágeno no desnaturalizados con una estructura de triple hélice integrada mediante cromatografía de filtración en gel (GFC), cromatografía de intercambio iónico (IEC), HPLC de fase inversa (RP-HPLC), FTIR, ionización por desorción láser asistida por matriz-tiempo de vuelo/espectrometría de masas (MALDI-TOF/MS) y análisis de composición de aminoácidos. Concluyendo que se obtuvieron por primera vez las estructuras primarias precisas del PSC de tipo I con una cobertura de péptido coincidente del 100%.

García-Sifuentes et al (9), en el 2021, en México, realizaron una investigación con el objeto de extraer y evaluar el colágeno soluble en ácido (ASC) y soluble en pepsina (PSC) a partir de una mezcla de derivados de diferentes especies. Se analizaron la composición química, el perfil de aminoácidos, el perfil electroforético, el infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), la temperatura-entalpía de desnaturalización y la solubilidad de ambos. La ASC y la PSC obtuvieron unos resultados respectivos del 48,6% y el 38,8% de proteínas, así como del 7% y el 6% de hidroxiprolina. La estructura de triple hélice no se vio afectada por el procedimiento de extracción, como muestran el perfil electroforético y el espectro FTIR. El perfil electroforético reveló la existencia de bandas de colágeno de tipo I (1, 2 y), mientras que el espectro FTIR reveló los grupos funcionales del colágeno (amida A, B, I, II y III). Tanto el ASC como el PSC alcanzaron su desnaturalización completa a temperaturas de 38,27 y 38,07 grados Celsius, respectivamente. A un pH de 5, la solubilidad del ASC era la más baja,

mientras que a un pH de 9, la solubilidad del PSC era la más alta. Ambas formas de colágeno se extrajeron eficazmente y, debido a las propiedades estructurales únicas de cada una, ofrecen una opción de sustitución potencial para su uso en los sectores alimentario, biomédico y farmacéutico.

Hamdan et al. (10), en el 2019, en Malasia, ejecutaron un trabajo de aislamiento y caracterización de colágeno de materiales de desecho de *Sardinella Fringescale (Sardinella Fimbriata)*, utilizando la extracción soluble en ácido (ASC) y soluble en pepsina (PSC). Los colágenos se caracterizaron en términos de concentración de proteína, estructura, solubilidad y propiedades morfológicas. Reportando resultados de rendimiento de $7,48 \pm 4,84\%$ para ASC y $0,94 \pm 0,22\%$ PSC. Las concentraciones de proteína para ASC y PSC fueron significativamente ($p < 0.05$) menor que el colágeno comercial (de escama de tilapia). Se evidenciaron bandas funcionales amida A ($3400-3440 \text{ cm}^{-1}$), amida II ($1400-1600 \text{ cm}^{-1}$) y amida III ($1200-1500 \text{ cm}^{-1}$) similares al colágeno comercial. El estudio morfológico mostró que el colágeno tenía una forma escamosa y fibrilar estructura. Por lo mencionado, el colágeno extraído de *fringescale sardinella* demostró potencial de uso como colágeno alternativo de fuentes marinas.

Md Zin et al (11), en Malasia, en el año 2019, realizaron un estudio extracción de colágeno y gelatina de escamas de diferentes pescados de agua dulce. Se extrajo colágeno y gelatina solubilizados en ácido de las escamas de tres especies diferentes de peces de agua dulce, kelah (*Tombroides*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) y el pez cabeza de serpiente (*Channidae*) y se caracterizó con respecto a la proteína por el método de Bradford y por peso molecular usando SDS-PAGE. Los resultados muestran absorbancia de proteína de 0.018 en escama de tilapia, 0.017 pez kelah y 0.011 de pez cabeza de serpiente. Para la gelatina, las escamas de pez cabeza de serpiente mostraron la mayor cantidad de concentración de proteína total seguida por tilapia y pescado kelah con 0.467, 0.144 y 0.037 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ por g, respectivamente. Los resultados de SDS-PAGE de las tres especies fueron identificados como un colágeno tipo 1 (peso molecular aproximadamente de 95 a 130 kDa). En cuanto a la gelatina, solo la gelatina de pez cabeza de serpiente se identificó como tipo 1 (peso molecular

aproximadamente de 95 a 130 kDa), mientras que los otros dos peces de agua dulce no mostraron una banda clara debido a la alta viscosidad de la gelatina producida. Se puede decir que los peces investigados en este estudio tienen un potencial para ser la fuente alternativa de colágeno y gelatina.

Chinh et al. (12), 2019, en Vietnam, llevaron a cabo una exploración sobre caracterización del colágeno derivado de escamas de peces Carpa tropical de agua dulce y su secuencia de aminoácidos. Para la extracción se realizó una hidrólisis ácida a 4°C. El colágeno obtenido de las escamas de pescado es colágeno tipo I, y tienen cadenas $\alpha 1$, $\alpha 2$ y β en estructura con el tipo cadena de $(\alpha 1)2\alpha 2$ y la secuencia de aminoácidos del colágeno purificado es similar al colágeno extraído del común europeo carpa *Cyprinus carpio*. Por ende, el colágeno obtenido se puede utilizar como una fuente alternativa de colágeno en fotografía, alimentación, campos farmacéuticos, etc.

Alzamora et al. (13), en el 2019 elaboraron una investigación con el fin de extraer colágeno a partir de escamas de mero (*Acanthistius pictus*), para otorgarle un valor agregado a los residuos marinos de su localidad. Para dicho proceso las escamas fueron sometidas a tres continuos lavados con agua potable y uno final con una solución sanitizante para liberar las impurezas, ya una vez limpias las escamas prepararon mezclas (escama-agua) en diferentes proporciones 1:2; 1:4; 1:6, a distintas temperaturas el primer tratamiento entre 35-40°C y el segundo a 85°C. El método de extracción fue sólido-líquido. Llegando a la conclusión de que los parámetros evaluados (temperatura y proporciones escama/agua) se obtiene un valor uniforme de 60% de colágeno, lo que comprueba el valor proteico de las escamas de mero (*Acanthistius pictus*).

Barrenechea (5), en el 2019 hizo un trabajo de investigación con el objetivo de estudiar el proceso de extracción de colágeno a partir de piel de Paiche (*Arapaima gigas*). Determinando que para el macerado la concentración adecuada de hidróxido de potasio fue de 1N en una relación 1:5 (piel/solución) por 12h, aquí se observó el desprendimiento de escamas y la hinchazón de la piel. Durante la neutralización de piel de Paiche ya macerada se indujo a diferentes cantidades de lavados cada uno con duración de 10 minutos, para eliminar el hidróxido y neutralizar la piel,

concluyendo que después de 8 lavados se disminuyó el pH hasta 7,14. Y para la etapa de extracción, se probaron 3 temperaturas, 50°C, 60°C y 70°C; para establecer la validez estadística se propuso un diseño de bloques completamente al azar y para saber que tratamiento fue el mejor se utilizó un Test de Tukey; concluyendo que la mejor opción de T° fue de 70°C con un tiempo de extracción de 3h; haciendo que la piel de paiche sea una materia prima que se puede aprovechar para la extracción del colágeno.

Ramón (14), 2018, en Brasil, desarrolló una investigación para extraer y caracterizar colágeno de piel de paiche (*Arapaima gigas*). La extracción estuvo dividida en dos etapas el pretratamiento y la extracción, todo el proceso se llevó a cabo a 20°C. Tras la extracción se caracterizó el producto mediante SDS PAGE, FTIR, temperatura de desnaturalización y solubilidad. Los resultados muestran que el rendimiento obtenido fue del 27,8% y mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS PAGE) se determinó que el colágeno obtenido es tipo I, asimismo el colágeno presentó mayor solubilidad relativa a pH 3 y una disminución de la solubilidad a partir del 3% de concentración NaCl. El estudio llegó a la conclusión, que es posible obtener colágeno a 20°C a partir de la piel del paiche, con las características típicas del colágeno tipo I comercial.

Tan y Chang (15), en el 2018, realizaron un estudio titulado “Aislamiento y caracterización del colágeno extraído de la piel del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*)” se investigó la solubilidad de las proteínas, el potencial zeta, el diámetro circular y la fuerza del gel del colágeno extraído mediante tres métodos para determinar las condiciones óptimas de extracción, mostró que los colágenos extraídos con diferentes métodos tenían diferentes patrones de proporción de proteínas, a pesar de que la masa molecular de las subunidades de colágeno era similar, 123 y 113 KDa para α 1 y cadenas α 2, 226 KDa para la cadena β y 338,5 KDa para la cadena γ , respectivamente. Los colágenos de piel de bagre de canal eran colágenos típicos de tipo I y podrían tener aplicaciones en las industrias alimentaria, médica y cosmética.

En el 2017 Olantunje y Denloye (16), hicieron un estudio donde estudiaron la cinética de extracción de colágeno hidrolizado de las escamas

de corvina (*Pseudotolithus alarga*) que comúnmente están en las aguas marinas de Nigeria; trabajaron con una temperatura entre 60 y 100°C. El rendimiento general aumentó a medida que aumenta la temperatura, el mayor rendimiento se produjo entre 90 y 100 ° C, lo que indica que la temperatura tiene un efecto significativo en el rendimiento, así como la cinética. Estos hallazgos son relevantes en la evaluación predictiva, así como el diseño y optimización de procesos de extracción de colágeno hidrolizado de escamas de pescado, además que la extracción hidrotermal es menos complicado y menos costoso en términos de costo de materiales(16).

Zhang et al. (17), en el 2017, desarrollaron un estudio “Péptidos de colágeno marino de la piel de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterización y evaluación de la cicatrización de heridas” in vitro e in vivo, cuyos resultados mostraron que los péptidos de colágeno marino tienen un efecto significativo sobre el cierre de herida por tratamiento con péptidos del colágeno marino, y también podían mejorar el proceso de cicatrización.

Quintero y Zapata (18), en el 2017, realizaron un estudio para evaluar el efecto de temperatura y concentración de hidrolizante en la extracción de colágeno soluble en ácido a partir de tres partes anatómicas de tilapia roja: escamas, espinas y piel. Para la extracción de colágeno se utilizaron valores de temperatura de 10°C y 20°C, y concentraciones de ácido 0.10, 0.30, 0.40 y 0.70M. Dando como resultado que a 25°C y 0.4M de NaOH en hidrolisis básica, se obtiene mayor liberación de colágeno. Además de la posibilidad de alcanzar el máximo porcentaje de colágeno en la hidrolisis ácida con una solución de 0,7M a temperatura de 11,0°C para las escamas. El trabajo concluye que es posible optimizar el proceso de extracción de colágeno a partir de escamas, espinas y pieles de tilapia roja, en función de la temperatura y concentración de los agentes químicos utilizados.

Huang et al. (19), En el año 2016, ejecutaron un trabajo para aislar y caracterizar colágeno de escamas de pescado de tilapia (*Oreochromis sp.*) mediante un novedoso proceso de extrusión-hidroextracción”, las muestras de escamas extruidas tuvieron un rendimiento de extracción de proteínas 2-3 veces mayor que el de las muestras de escamas no extruidas. Todos los extractos contenían hidroxiprolina (61-73 residuos/ 1000 residuos) e

hidroxilisina (5-6 residuos / 1000 residuos) y fueron identificados como colágenos de tipo I por electroforesis FTIR, SDS-PAGE, y análisis de distribución de peso molecular. Los estudios fisicoquímicos revelaron que los colágenos extraídos podrían tener aplicaciones prometedoras en las industrias alimentaria, médica y cosmética.

1.2 Bases Teóricas

1.2.1 Especies en estudio

1.2.1.1 Boquichico (*Prochilodus nigricans*)

Figura 1: Boquichico (*Prochilodus nigricans*)



El boquichico es un pez que puede llegar a medir hasta 50 centímetros de longitud. Tiene un color gris azulado en el dorso, un poco más claro en los costados, y plateado en el vientre, con bandas tenues en el dorso y aleta caudal, la boca es terminal con labios en forma de ventosa, con dientes córneos móviles implantados en los labios que le permiten "lamer" el perifiton (alimento vivo pegado a piedras, palos, etc.), así como obtener su alimento del fondo. Esto le permite obtener su alimento de dos maneras diferentes. Alcanza la madurez sexual al año, reproduciéndose al inicio de la crecida de los ríos, la tradición de su consumo en la región, y su adaptabilidad al cautiverio lo hace un excelente pez para su cultivo como compañero de otra especie principal. Emigra en grandes cardúmenes en épocas de estiaje para alimentarse, y emigra al inicio de la crecida para reproducirse (20).

1.2.1.2 Lisa (*Megaleporinus trifasciatus*)

Figura 2: Lisa (*Megaleporinus trifasciatus*)



Megaleporinus trifasciatus (Lisa), pez omnívoro, habita en aguas dulces con Temperatura templado – cálidas; se encuentran en la Cuenca Amazónica de Perú y Brasil. De tamaño mediano que puede llegar a medir hasta 40cm de longitud, presenta color gris oscuro en el dorso y gris claro ventralmente, posee 3 bandas transversales negras a los lados del tronco, de la cual la más resaltante es aquella ubicada entre las aletas dorsal y ventral, una mancha negra redonda en la base del pedúnculo caudal y área opecular naranjas; cuenta con 6 dientes con borde, línea lateral con 40 a 43 escamas. Suele situarse en ríos y lagunas de aguas blancas o negras, Migran largas distancias por ríos caudalosos en cardúmenes, donde son capturados. Esta es una especie representativa de los desembarques, por lo que tiene un impacto importante económicamente (21).

1.2.2 Escamas de pescado

Figura 3: escamas de lisa y boquichico



Las escamas son un componente característico de los peces y pueden ser de varios tipos, existen los placoides en tiburones y rayas, también están los ganoides, cicloídeas, ctenoídeas. Las escamas también son utilizadas en los estudios científicos para determinar la edad del pez, utilizando los anillos concéntricos que estos presentan. Los peces se distinguen por la presencia de estas estructuras; sin embargo, no todos los miembros de este grupo de animales las tienen, y los peces también carecen de ellas en algunos periodos de su desarrollo. En el caso de los alevines, no se desarrollan hasta que los alevines alcanzan una longitud de dos a tres centímetros; en cambio, en los galáxidos, aplochitónidos y peces gato, faltan por completo, mostrando, en consecuencia, el cuerpo desnudo y estando protegidos únicamente por la piel (22).

1.2.3 Proteínas

Las proteínas son polímeros, y los α -aminoácidos son los monómeros que se unen para producirlas. La prolina, que es un ejemplo de aminoácido cíclico, nos interesa especialmente porque tiene muchas de las propiedades de los aminoácidos alifáticos como la alanina y la glicina. Una vez incorporada

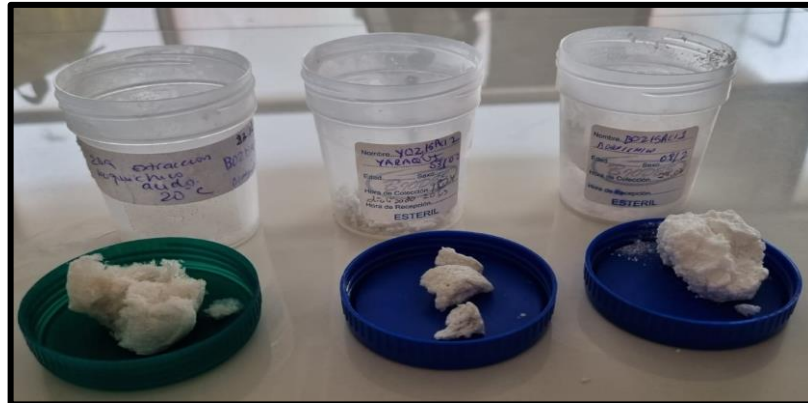
a las proteínas, la prolina puede sufrir una transformación química que da lugar a la formación de 4-hidroxiprolina (23).

El nivel fundamental de organización estructural de las moléculas proteicas es la secuencia, seguida del nivel secundario para el plegamiento local, el nivel terciario para el plegamiento global y el nivel cuaternario para el acoplamiento de múltiples cadenas. El orden de los aminoácidos en cada proteína viene determinado por la secuencia de ADN del gen que la codifica en el nivel más básico de la estructura. La forma tridimensional de la proteína viene determinada en su mayor parte por su estructura principal, por eso es tan importante. Cualquier cambio en el orden de los aminoácidos en la secuencia provocará un cambio en la estructura tridimensional de la proteína, que a su vez tendrá un efecto en la función biológica de la proteína (23).

Existe la posibilidad de que se formen enlaces de hidrógeno entre los átomos de hidrógeno del grupo amino de un aminoácido y los átomos de oxígeno del grupo carboxilo de otro aminoácido. Gracias a estos enlaces, la cadena polipeptídica puede plegarse, lo que da lugar a una de las dos disposiciones espaciales que componen lo que se conoce como estructura secundaria de una proteína. Estas dos disposiciones se denominan -hélice y -hoja plegada, respectivamente. La hélice se distingue por la formación de una espiral geométrica muy uniforme en la que cada vuelta está compuesta por 3,6 aminoácidos. Esta estructura da nombre a la hélice. Estos puentes de hidrógeno se forman entre el hidrógeno del grupo amino de un enlace peptídico formado por un aminoácido y el oxígeno del grupo carboxilo del cuarto residuo situado delante de la hélice. Estos puentes de hidrógeno son los responsables del mantenimiento de la hélice. Hay 11 proteínas estructurales incluidas en esta categoría, entre ellas el colágeno, la queratina y la elastina (24).

1.2.3 Colágeno

Figura 4: colágeno de escama de peces amazónicos.



El colágeno es la molécula más antigua de la matriz extracelular, así como la proteína más abundante en el organismo. La conservación evolutiva del colágeno se puede ver a partir de su amplia utilización en muchos tejidos diferentes en todo el reino animal. La molécula de colágeno tiene una estructura de triple hélice ensamblada por células a través de un proceso complejo y elaborado de varios pasos, la biosíntesis de colágeno. La estructura helicoidal está reforzada por una red de enlaces de hidrógeno que mejoran significativamente la estabilidad térmica y contribuyen a la elasticidad de la molécula. Este capítulo proporciona una descripción general de la estructura, la evolución, la biosíntesis y las relaciones estructura-función de la molécula de colágeno y analiza los modelos de elasticidad basados en la dinámica molecular y de polímeros y cómo predicen los cambios en la rigidez después de mutaciones puntuales en la estructura de la proteína primaria de colágeno que se producen en la osteogénesis imperfecta (25).

Debido a sus características antigénicas mínimas y a su buena adhesión celular directa, el colágeno de tipo I se ha utilizado ampliamente como biomaterial en la construcción de estructuras de ingeniería tisular y sistemas de vendaje de heridas, esto se debe a su amplia disponibilidad (26).

El colágeno se distingue sobre todo por su extraordinaria resistencia, como demuestra el hecho de que una fibra de 1 milímetro de diámetro puede soportar una fuerza de entre 10 y 40 kg (27). Su principal función es la de

soporte estructural y celular. La molécula de colágeno tiene una estructura compleja de forma helicoidal, formado principalmente por glicina, prolina y hidroxiprolina. Las cualidades mecánicas del colágeno son atribuibles tanto a su composición biomecánica como a la disposición de las moléculas que lo componen (27).

Se compone de tres cadenas polipeptídicas denominadas α -cadenas, dos α -cadenas idénticas que se clasifican como 1(I) y una α -cadena separada que se marca como 2(I). Estas tres cadenas se enrollan sobre sí mismas para crear una supercadena de 300 nm de longitud, 1,5 nm de diámetro y 300 kDa de peso molecular (28).

1.2.3.1 Tipos de colágeno

El colágeno, compuesto más importante del tejido conectivo y elemento estructural de gran relevancia en organismos multicelulares. Está compuesto por 27 tipos encontradas en los tejidos conectivos del cuerpo, los cuales se clasifican por su tamaño, función y distribución. Por ejemplo, el colágeno de Tipo I, II y III, son los más abundantes y los responsables de la fuerza del tejido, su elasticidad y capacidad para retener agua.

El porcentaje de colágeno en el cuerpo humano es el siguiente: En los tendones (80 a 90%), piel (50 a 70 %), cartílago (50-70 %), arterias (10 a 25 %), pulmón (10%), hígado (4%) y hueso desmineralizado (90%).

Tabla 1: Tipos de colágeno

Tipo	Descripción
Tipo I	Huesos, tendones, piel (80-85% de todo el colágeno)
Tipo II	Esclerótica, cartílagos
Tipo III	Piel, aorta, pulmón, tejidos fetales (10% de todo el colágeno)
Tipo IV	Córnea, glomérulos renales, láminas basales (2-4% de todo el colágeno)
Tipo V	Huesos, tendones, vasos sanguíneos
Tipo VI	Vasos sanguíneos, placenta, piel fetal
Tipo VII	Membrana corio-amniótica
Tipo VIII	Endotelios
Tipo IX	Cartílagos, córnea y retina
Tipo X	Cartílagos
Tipo XI	Cartílagos
Tipo XII	Cartílagos

Fuente: Torra et al. (29)

Por ello, es importante indicar algunos datos importantes referentes a los tipos de colágeno, tales como

- Colágeno Tipo I: Proporciona rigidez a la tracción para tendones y fascia en los órganos. En los huesos, define extensas propiedades biomecánicas con respecto a la carga rodamiento, resistencia a la tracción y rigidez torsional.
- Colágeno Tipo II: Son esenciales para la síntesis y reconstrucción del tejido conectivo sobre todo el cuerpo. Según los informes, este tipo de colágeno ayudar a reducir la destrucción del colágeno dentro el cuerpo, puede proporcionar actividad antiinflamatoria y puede mejorar la flexibilidad de las articulaciones.
- Colágeno Tipo III: Es un componente importante de fibras reticulares en el tejido intersticial de los pulmones, hígado, dermis, bazo y vasos.

La molécula también a menudo contribuye a fibrillas mixtas con colágeno tipo I y también es abundante en tejidos elásticos.

- La mayoría de los carbohidratos del colágeno se encuentran unidos al grupo hidroxilo de la hidroxilisina en forma del disacárido Glu-Gal.. La proporción de carbohidratos que se encuentra en los colágenos fibrilares es bastante modesta (oscila entre el 0,5 y el 1% en los tipos I y III), pero esta proporción es mucho mayor en los colágenos no fibrilares (14% en el tipo IV) (30).

1.2.4 Colágeno tipo I

El colágeno nativo tipo I se puede extraer de diferentes fuentes, sin embargo, la principal fuente de extracción es la bovina debido a su disponibilidad y biocompatibilidad. El colágeno puede extraerse de diversos tejidos, como huesos, tendones, tejido pulmonar e incluso tejido conjuntivo. Este proceso puede tener lugar en todo el cuerpo (31,32).

Se han desarrollado fuentes alternativas para la extracción de colágeno nativo que no son de origen bovino o porcino a partir de tendones y piel ovinos (33); tejido de pescado, como espinas, piel y escamas o subproductos de pescado de desecho, u otras fuentes, como piel de pollo, pato y conejo (34).

1.2.5 Colágeno como fuente de compuestos activos beneficiosos para la salud humana

El colágeno según algunos autores presenta compuestos activos que realizan actividad antioxidante y antimicrobiana, por lo que también puede ser utilizada como ingrediente funcional en complementos alimenticios (7,35,36). Los hidrolizados de colágeno pueden unir iones de calcio, mejorando su biodisponibilidad, por lo tanto, el colágeno puede usarse en ingredientes de alimentos funcionales en el manejo de las deficiencias de minerales (37,38). El colágeno actúa como anticoagulante porque ayuda a disminuir el daño en células y tejidos originado por las bajas temperaturas, por lo que podría ser útil en alimentos que requieran almacenamiento en frío o temperaturas bajo cero (39).

El uso de hidrolizados de colágeno de pescado en productos cárnicos como las hamburguesas de búfalo dio como resultado un mayor contenido de proteína, un contenido de grasa más bajo, una aceptabilidad sensorial similar y una mejor textura en comparación con las hamburguesas de búfalo sin colágeno (40).

1.2.5.1 Principios activos del colágeno

El ecosistema acuático, sigue siendo una reserva sin explotar de compuestos bioactivos, que tienen un potencial considerable para proporcionar ingredientes novedosos para el desarrollo de productos benéficos para la salud del ser humano. Se han analizado varias fuentes de colágeno debido a su amplia variedad de aplicaciones, como el colágeno de vacas y cerdos. Sin embargo, el colágeno de mamíferos se ha visto limitado por enfermedades como la encefalopatía espongiforme bovina (BSE) y otras limitaciones religiosas. De ahí que el colágeno de pescado ha llamado la atención de la comunidad investigadora porque es fácil de extraer, tiene un alto nivel de contenido de colágeno, excelentes propiedades de absorción, bajo peso molecular, biocompatibilidad, poco riesgo de transmisión de enfermedades de animales a humanos, contaminación ambiental insignificante y menos preocupaciones éticas y religiosas, lo que lo convierte en recurso ideal para el desarrollo de productos para mejorar la salud humana (41).

El colágeno es una proteína importante en el organismo vivo que produce la estructura de huesos, cartílagos, cápsulas cartilaginosas, articulaciones, tendones, piel, cabello y uñas (41).

En biomedicina, el colágeno sirve principalmente como transportador de fármacos, material de ingeniería de tejidos, sutura quirúrgica absorbible, relleno óseo, material osteogénico, agente hemostático, inmovilizador de enzimas y apósito para quemaduras/heridas. Se han investigado varias fuentes de colágeno debido a la amplia variedad de aplicaciones, como el colágeno de vacas y cerdos. Sin embargo, el colágeno de mamíferos se ha visto limitado por enfermedades como la encefalopatía espongiforme bovina (BSE) y otras creencias religiosas (42).

1.2.6 Colágeno en la industria alimentaria nutracéutica

Los tejidos del ser humano, dependen del colágeno para la integridad estructural y biológica, así como para la función y la fuerza. Los productos hidrobiológicos son una parte importante de la dieta en muchas naciones. Además, como fuente de proteínas, los pescados juegan un papel importante como componentes funcionales que son esenciales para la salud humana. En la industria o en las pesquerías locales, el procesamiento de los productos del mar genera una gran cantidad (50–80 %) de subproductos no comestibles, que se descartan como desechos en varias partes del mundo. Estos subproductos del procesamiento de pescados son fuentes ricas en varias biomoléculas novedosas y valiosas, como el colágeno y la gelatina. Asimismo la utilización de estos productos de desechos, ayudan en la preservación del medio ambiente (43).

Mientras pasan los años, la especie humana viene preocupándose por mejorar su calidad de vida y sus condiciones de salud, por dicho motivo busca consumir productos y alimentos saludables (44).

Siendo el colágeno una proteína de origen animal, cuya función principal es contribuir a la integridad estructural de los tejidos en los que se encuentra presente y el cual al iniciar en la edad adulta comienza a disminuir; es que ha habido un aumento en el interés de la aplicación de colágeno en complementos alimenticios y en productos alimenticios tales como infusiones, zumos, yogures, salchichas, gelatina, budines y así como alimentos que pueden utilizar alimentos con colágeno añadido para tratamientos que mejoran la elasticidad, firmeza de la piel y prevención de enfermedades. Por ejemplo la fibra de colágeno estabilizada es utilizada como una alternativa natural a los emulsionantes sintéticos para su usarlas en formulaciones ácidas de alimentos y bebidas o incluso utilizada como barrera protectora contra la oxidación (44). Asimismo, es importante añadir que el colágeno tiene un gran impacto en el sector de nutrición deportiva.

Además, actualmente existen bebidas a base de colágeno, las cuales son una gran sorpresa y tendencia en el mundo, bebidas a base de colágeno de cacao, colágeno de cappuccino e incluso bebidas energéticas a base de

colágeno las cuales promueven la capacidad natural del cuerpo para generar tejidos grasos, reducir las arrugas y la flacidez de la piel. Demostrando que el colágeno es de vital importancia en las industrias de alimentos y bebidas, aplicándose a suplementos dietéticos proteicos, en el procesamiento de carnes, películas comestibles y recubrimientos de productos y aditivos alimentarios para mejorar los productos calidad, agregando que ayuda a mejorar la salud y el valor nutricional de los productos (30).

El colágeno se ha utilizado en la preparación de diferentes productos, como productos cárnicos, bebidas, sopas y otros. Ayuda a aumentar y mantener sus propiedades sensoriales, químicas y físicas. Se han utilizado también, en alimentos procesados como salchichas para reemplazar la grasa de cerdo al 50% de nivel de reemplazo. Los resultados del producto final tenían una mayor capacidad de retención de agua, una mejor estabilidad después de la cocción y una textura mejorada, como la dureza y la masticabilidad (45).

Los hidrolizados de colágeno obtenidos a partir del pescado se pueden agregar en bebidas como el jugo de naranja (2,5 %), y el producto mostró una mejora en las propiedades nutricionales y funcionales con un mayor contenido de proteínas, biodisponibilidad y baja viscosidad, así como alta solubilidad en agua (46). El desarrollo de una bebida láctea fermentada utilizando suero de queso ricotta con colágeno adicionado como ingrediente funcional presentó baja sinéresis y sedimentación, con buenas propiedades físico-químicas y microbiológicas (47). Las bebidas lácteas que utilizan colágeno hidrolizado, pulpa de açaí y queso mostraron mayor aceptabilidad sensorial, afectando positivamente la viscosidad y presentando parámetros fisicoquímicos y microbiológicos adecuados después de 28 días de almacenamiento (48).

El colágeno de piel de bovino se utilizó en combinación con almidón modificado y goma guar en la elaboración de jamones. La sinéresis más baja con una concentración final de 2,0 % de colágeno en el producto se informó como el mejor tratamiento (49).

1.2.7 El uso de residuos hidrobiológicos (escamas) como cuidado del medio ambiente.

Como resultado de procesamiento de la industria pesquera, la gran mayoría del material de pescado se descarta o se convierte en aceite y harina de pescado de bajo valor. A pesar de esto, las piezas desechadas están llenas de valiosas proteínas, vitaminas y minerales. Dado al crecimiento de la población mundial y el consumo conducen a que se produzcan más desechos de pescado cada año, los desechos comerciales y domésticos representan una cantidad significativa de estos subproductos. Además, los desechos de pescado tienen efectos perjudiciales en el medio ambiente acuático, contribuyen a la contaminación, emiten olores desagradables y se están convirtiendo en un tema de preocupación pública. Es de gran importancia examinar métodos de reutilización de desechos industriales y subproductos de la industria pesquera (50)

1.2.8 Hidrólisis

La hidrólisis, proceso mediante el cual un compuesto se descompone en compuestos más simples y va acompañado de la incorporación química de agua. Casi todos los tejidos contienen enzimas que catalizan la hidrólisis, pero las concentraciones más altas se encuentran en el hígado. Las enzimas que hidrolizan los ésteres se denominan esterases, y muchas de estas enzimas son relativamente inespecíficas y aceptarán una amplia gama de sustratos (51).

12.8.1 Hidrólisis ácida

La extracción por hidrolisis ácida, suele aplicar para la extracción de colágeno tipo I de tejidos de origen porcino o piel de pescado(52). El ácido acético es el reactivo más común para la extracción de colágeno por hidrolisis ácida. La concentración de este ácido afectará el valor de pH final cambiando la estructura y la interacción electrostática. También determina la solubilidad y la capacidad de extracción del tejido animal (53). La hidrolisis ácida desnaturaliza el colágeno nativo y produce tres cadenas alfa en su forma enrollada al azar. (33).

La hidrólisis puede proceder en varias etapas hasta que se elimine la última molécula de agua coordinada. El proceso de hidrólisis puede interrumpirse si en una etapa se produce un compuesto insoluble. La hidrólisis ocurre más fácilmente con iones metálicos que polarizan fuertemente las moléculas de agua coordinadas (54).

12.8.2 Hidrolisis enzimática

La hidrólisis enzimática, un proceso que generalmente se lleva a cabo bajo condiciones controladas (pH, temperatura, concentración de sustrato y actividad enzimática), es el método más común para generar péptidos bioactivos (55). La alta especificidad y la falta de solventes orgánicos residuales y químicos tóxicos en las preparaciones peptídicas finales han posicionado a la hidrólisis enzimática como el proceso preferido en las industrias alimenticia y farmacéutica para la producción de péptidos bioactivos (56).

12.8.3 Hidrolisis mixta

Una combinación de tratamiento de hidrolisis ácido y enzimático (mixto) produce un proceso de extracción de colágeno más alto y más eficiente (33). La pepsina es uno de las enzimas más utilizadas en el proceso de extracción de colágeno, se puede obtener de la mucosa gástrica porcina. Esta enzima afecta la región telopeptídica en la molécula de colágeno aumentando su solubilidad en un medio ácido (36,37). Esta tecnología se puede aplicar en diferentes tejidos, como la piel de pescado y los tendones bovinos, para producir concentraciones más altas de colágeno en tiempos de extracción más cortos (59,60). Las condiciones previas al tratamiento, la diálisis y la fuente de extracción son los principales factores que determinan las características finales del colágeno, como su peso molecular, composición de aminoácidos y estructura molecular (61).

1.2.9 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

FTIR son las siglas en inglés de "Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier", y en la espectroscopia IR se envía luz infrarroja a través de una muestra. Parte de la radiación infrarroja es absorbida por la

muestra, mientras que la parte restante la atraviesa. El espectro obtenido es una representación de la absorción y transmisión moleculares, que juntas proporcionan una huella molecular del material. Del mismo modo que no hay dos huellas dactilares idénticas, no hay dos estructuras químicas distintas que puedan crear el mismo espectro IR. Por este motivo, la espectroscopia IR puede utilizarse para una gran variedad de tipos de análisis. Los picos de absorción de un espectro IR revelan la huella dactilar única de una muestra. Estos picos corresponden a la frecuencia de las vibraciones que se producen entre los enlaces de los átomos que componen el material (62).

Dado que cada sustancia tiene su propia composición química y, en consecuencia, su propia configuración de átomos, no hay dos compuestos que tengan el mismo espectro IR preciso. Por consiguiente, la espectroscopia IR es capaz de producir una identificación positiva (análisis cualitativo) de todos los tipos diferentes de materiales. Además, la magnitud de un pico en el espectro es un indicador directo de la cantidad de sustancia que contiene (63).

1.2.9.1 Principio de funcionamiento

Las limitaciones de los equipos de dispersión inspiraron el desarrollo de la espectrometría FTIR, que posteriormente se utilizó para superar dichos límites. La lentitud del procedimiento de barrido fue el principal reto. En lugar de medir cada frecuencia IR por separado, era necesario disponer de un sistema que pudiera medirlas todas simultáneamente. Se creó un método que incluía el uso de un interferómetro, que es un instrumento óptico relativamente sencillo. El interferómetro sólo generaba un tipo de señal, que tenía las frecuencias IR "mezcladas" entre sí. El elemento temporal de cada muestra se redujo, ya que la señal se medía en segundos (62).

Un espectrofotómetro es el nombre del equipo de laboratorio que calcula el espectro de absorción de una sustancia. En comparación con el espectrofotómetro convencional, el espectrofotómetro por transformada de Fourier es capaz de producir el espectro IR a un ritmo mucho más rápido. El aparato genera un haz de radiación infrarroja que se emite desde una fuente similar a un cuerpo negro brillante. Después, el haz se envía al interferómetro,

que es el componente responsable de la codificación espectral. En un interferómetro, la recombinación de haces con longitudes de trayectoria variables produce un patrón de interferencia conocido como interferograma. Este patrón de interferencia puede ser constructivo o destructivo. El haz está a punto de penetrar en el compartimento de la muestra cuando lo hace, momento en el que la muestra absorberá determinadas frecuencias de energía que son características distintivas de la muestra del interferograma. A continuación, el detector realiza una medición de la señal única del interferograma en términos de energía frente al tiempo para todas y cada una de las frecuencias simultáneamente (64).

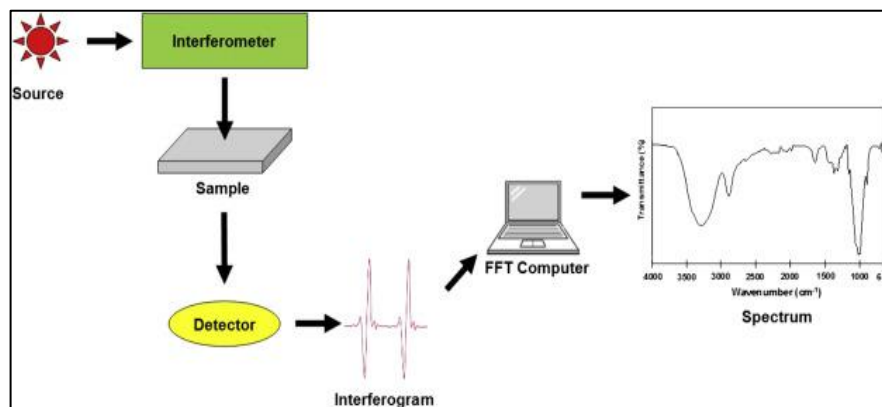


Figura 5: Componente básico en el espectrómetro infrarrojo de transformada de Fourier. Fuente: Mohamed et al. (64)

1.2.9.2 FTIR y sus aplicaciones industriales

La posición de FT-IR como una técnica útil para la caracterización de materiales industriales se ha establecido firmemente dentro de la última década. FT-IR ha aportado méritos adicionales como alta sensibilidad, alta precisión, rapidez de medición, y amplia capacidad de procesamiento de datos además de la intrínseca ventaja de la espectroscopia infrarroja, como la amplia aplicabilidad, la no destructividad, la medición en la atmósfera ambiental, la capacidad de proporcionar información estructural detallada y una enorme base de datos. La introducción de FT-IR a cambió la espectroscopia infrarroja de una técnica de identificación de materiales a granel a un sistema integral de caracterización materiales y ha abierto un nuevo campo especialmente en estudios de superficie y microanálisis de materiales industriales (65).

1.2.9.3 FTIR en la industria de los alimentos

Desde 1940, la espectroscopia vibratoria se ha desarrollado y utilizado para la caracterización de muchos materiales, especialmente polímeros/biopolímeros, seguido de la caracterización de los componentes de tejidos biológicos (66). La espectroscopia de infrarrojo son los procedimientos de espectroscopia vibratoria más comunes desarrollados para el análisis de biomateriales mediante la aplicación de espectroscopia vibratoria. Ambas técnicas se han utilizado ampliamente para analizar biomateriales, polímeros y tejidos; de hecho, se seleccionan con base en el problema dado bajo estudio. Comparativamente, las técnicas de infrarrojos (IR) necesitan preparaciones de muestras particulares, pero proporcionan muy buenas relaciones señal-ruido, la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), también llamada infrarroja, es una poderosa técnica ampliamente utilizada para investigar la naturaleza de varias sustancias, así como su comportamiento bajo numerosas condiciones. Espectros IR demuestran los enlaces que existen en las especies moleculares de diferentes muestras de alimentos, y por lo tanto, nos permite identificar las características vibracionales de sus átomos, así como determinar su identidad, impurezas, calidad y cambios (67).

1.2.9.4 Uso del FTIR para medir la calidad de colágeno.

La orientación de las moléculas de colágeno es un determinante importante de su funcionalidad en los tejidos conectivos. Existe un trabajo considerable que utiliza FTIR para investigar las propiedades químicas y cristalográficas de la bioapatita y el colágeno. Como resultado, la posición de la banda de absorción de los principales grupos funcionales químicos de ambos materiales se comprende bien. En particular, es posible distinguir los grupos funcionales asociados al carbonato (CO_3), fosfato (PO_4), y grupos amida orgánicos, que producen distintas bandas de absorción. El tamaño relativo de estas bandas es proporcional a la concentración, lo que significa que FTIR puede usarse para rastrear cambios en la abundancia y alteración de minerales/colágeno (68).

1.3 Definición De Términos Básicos

- **Aguas Continentales:** Agua dulce que se mantienen siempre sobre o debajo de la superficie Terrestre, alejados de zonas costeras (69).
- **Colágeno:** Es la proteína más prevalente en la matriz extracelular, es también la proteína más abundante de origen animal y representa aproximadamente el 25-30% de todas las proteínas que se encuentran en las criaturas animales. Es uno de los principales componentes de todos los tejidos conectivos del cuerpo, incluidos los músculos, los dientes, los huesos y la piel.(70).
- **Escamas de Pescado:** Es una estructura del exoesqueleto, formada por láminas rígidas más o menos flexibles que trazan un gran número de líneas concéntricas y surcos radicales (71).
- **Hidrolisis:** la hidrólisis es una reacción que puede ocurrir entre el ion metálico (M) y una o más moléculas de agua en la esfera de coordinación (solvatación), en la que se libera un protón (ion hidrógeno) y la solución se vuelve ácida (54) .
- ***Megaleporinus trifasciatus:*** es un pez que habita en las aguas dulces del Amazonas de Perú y Brasil. Viven en aguas templadas – calientes (72).
- ***Prochilodus nigricans:*** Es la especie hidrobiológica más pescada por las flotas pesqueras comerciales en la Amazonia; como recurso, es de gran importancia para el abastecimiento alimentario de la región, así como para su situación socioeconómica (73).
- **Proteína:** Las células están compuestas por más de la mitad de su peso seco en proteínas, que son macromoléculas complejas esenciales para la estructura y la función de una célula. Las proteínas pueden constituir más de la mitad del peso seco de una célula (74).

CAPITULO II: HIPOTESIS Y VARIABLES

2.1 Hipótesis

H1: Se logró extraer colágeno tipo I a partir de escamas de *Megaleporinus trifasciatus* (lisa) y *Prochilodus nigricans* (boquichico) por hidrolisis mixta.

H0: No se logró extraer colágeno tipo I a partir de escamas de *Megaleporinus trifasciatus* (lisa) y *Prochilodus nigricans* (boquichico) por hidrolisis mixta.

3.1 Variables y su operacionalización

VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	TIPO	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	VALORES DE LAS CATEGORIAS	MEDIO DE VERIFICACIÓN
Variable Independiente						
Tratamiento térmico	Es la temperatura que se utiliza para la extracción de colágeno.	Cuantitativa	Temperatura	Continua	15°C 20°C	Base de datos
Tipo de escama (Especie hidrobiológica)	Es la escama de pescado utilizado en el proceso de extracción de colágeno, diferenciado por el tipo de pescado amazónico.	Cuantitativa	Escama de boquichico Escama de lisa	Continua	100 gramos 100 gramos	Base de datos
Variable dependiente						
Porcentaje de Proteína	Es la cantidad de proteína con la que cuenta el producto final obtenido (colágeno).	Cuantitativa	Rendimiento (peso) Base seca	Continua	% de proteína	Reporte de resultados de análisis

CAPITULO III: METODOLOGÍA

4.1 Diseño metodológico

Para optimizar el proceso de extracción del colágeno de las escamas de pescado, el presente estudio adoptó un enfoque cuantitativo y experimental con un alcance explicativo. El enfoque experimental se adoptó porque manipulamos variables independientes y observamos los efectos sobre la variable dependiente en una situación de control; el alcance explicativo se adoptó porque la investigación pretendía establecer una relación causal entre las variables de estudio.

4.2 Diseño experimental

Como puede observarse en la Tabla 2, el diseño de la investigación con el fin de optimizar la extracción de colágeno a partir de escamas de pescado se llevó a cabo utilizando un diseño factorial con niveles y un diseño completamente aleatorizado (DCA). Esto se hizo con el fin de evaluar la importancia de dos factores, a saber, la especie (X1) y la temperatura (X2), en las respuestas: porcentaje de proteína (%P). El DCA consistirá en 4 experimentos factoriales, y 6 repeticiones. Según los cálculos, se realizarán un total de 24 ensayos para este proceso.

Tabla 2: Experimentos a realizar para la optimización de la extracción de colágeno obtenido a partir de escamas de peces amazónicos.

Especie	Temperatura (°C)	
	15	20
Boquichico	Ex1	Ex2
Lisa	Ex3	Ex4

4.3 Diseño muestral

4.3.1 Selección del área o ámbito de estudio

La presente investigación tiene un desarrollo en el área Bromatológica, Nutricional y Biológica, y se enfoca en un sector muy poco estudiado como son las especies hidrobiológicas de nuestros ríos amazónicos y en la obtención de una nueva sustancia con potencial funcional para industrias como la farmacéutica, nutricional y de salud, para futuras investigaciones. También decimos que el área de estudio son las ciencias naturales, e innovación tecnológica.

4.1.1 Población y muestra

Población

Para el desarrollo del proyecto se utilizaron como población 10 kg de escamas de *Megaleporinus trifasciatus* (lisa) y *Prochilodus nigricans* (boquichico).

Muestra

Como muestra se utilizaron aproximadamente 5 kg de escamas secas de *Megaleporinus trifasciatus* (lisa) y *Prochilodus nigricans* (boquichico).

4.1.2 Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

La materia prima (escamas) debieron cumplir las características adecuadas de frescura, textura, olor, color.

Criterios de exclusión

Se excluyeron escamas de las especies en estudio, que no cumplieron los parámetros de evaluación sensorial (Frescura, textura, olor, color).

4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos

Técnica

La técnica empleada fue el análisis experimental.

Instrumentos

Se utilizó como instrumentos de recolección de datos la ficha de resultados, en donde se apuntaron todos los datos obtenidos.

Asimismo se utilizaron materiales como, colador para lavar las escamas, guantes, agua potable, agua destilada, crisoles de cerámica, pinza para crisol, probeta (5ml, 100ml, 1000ml), matraces de enlemeyer de 200ml, bureta de 10ml, vaso precipitado de 200ml, Matraz de Enlemeyer de 250ml tubos de ensayo de vidrio con tapa rosca estériles, placas petris estériles, pipetas de 1ml – 5ml (estériles), tubos falcón de 50ml, gradilla, asa de siembra, algodón, fosforo, guantes, bata de laboratorio, cofia, rotulador indeleble, papel toalla, cuaderno de apuntes.

También se utilizaron equipos, como, estufa, equipo kjeldahl, incubadora, cabina de bioseguridad, recirculador de agua, homogenizador de paleta, contador de colonia, mufla, equipo soxhlet, y espectrofotómetro infrarrojo, centrifuga refrigerada eppendorf 5804R, Liofilizador CHRIST – Alpha 1-2LDplus.

4.5 Procedimientos experimentales

➤ Caracterización de la materia prima

El proyecto utilizó como materia prima dos especies hidrobiológicas (lisa y boquichico), las cuales fueron adquiridas en mercados de abasto de la ciudad de Iquitos. Una vez adquiridas fueron trasladadas a la Planta piloto de la Facultad de Industrias Alimentarias, donde fueron lavadas, para limpiar y eliminar cualquier residuo externo, posteriormente se realizó la evaluación sensorial según Balbuena (2014) (75), para asegurar la frescura de nuestra materia prima. Una vez terminado el proceso de lavado y seleccionado estas fueron secadas a temperatura ambiente para posterior uso.

La materia prima fue analizada según los métodos de la AOAC (*Association of Official Analytical Chemistry*) (76), para determinar la cantidad de proteínas, grasas, humedad y cenizas que contenían antes de ser utilizados.

El análisis microbiológico de la materia prima fue realizado teniendo como referencia la NTS N° 071 - MINS/DIGESA-V.01 (77). Este documento establece las normas microbiológicas de calidad e inocuidad sanitaria para alimentos y bebidas destinados al consumo humano, y en su punto XI es donde se discuten los criterios microbiológicos para productos hidrobiológicos crudos (frescos, refrigerados, congelados, salados o ahumados en frío) sugieren la identificación de *aerobios mesófilos* a una temperatura de 30 grados centígrados, así como de las especies *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*.

- **Obtención de Colágeno a partir de escamas de peces de agua dulce de la amazonia peruana.**

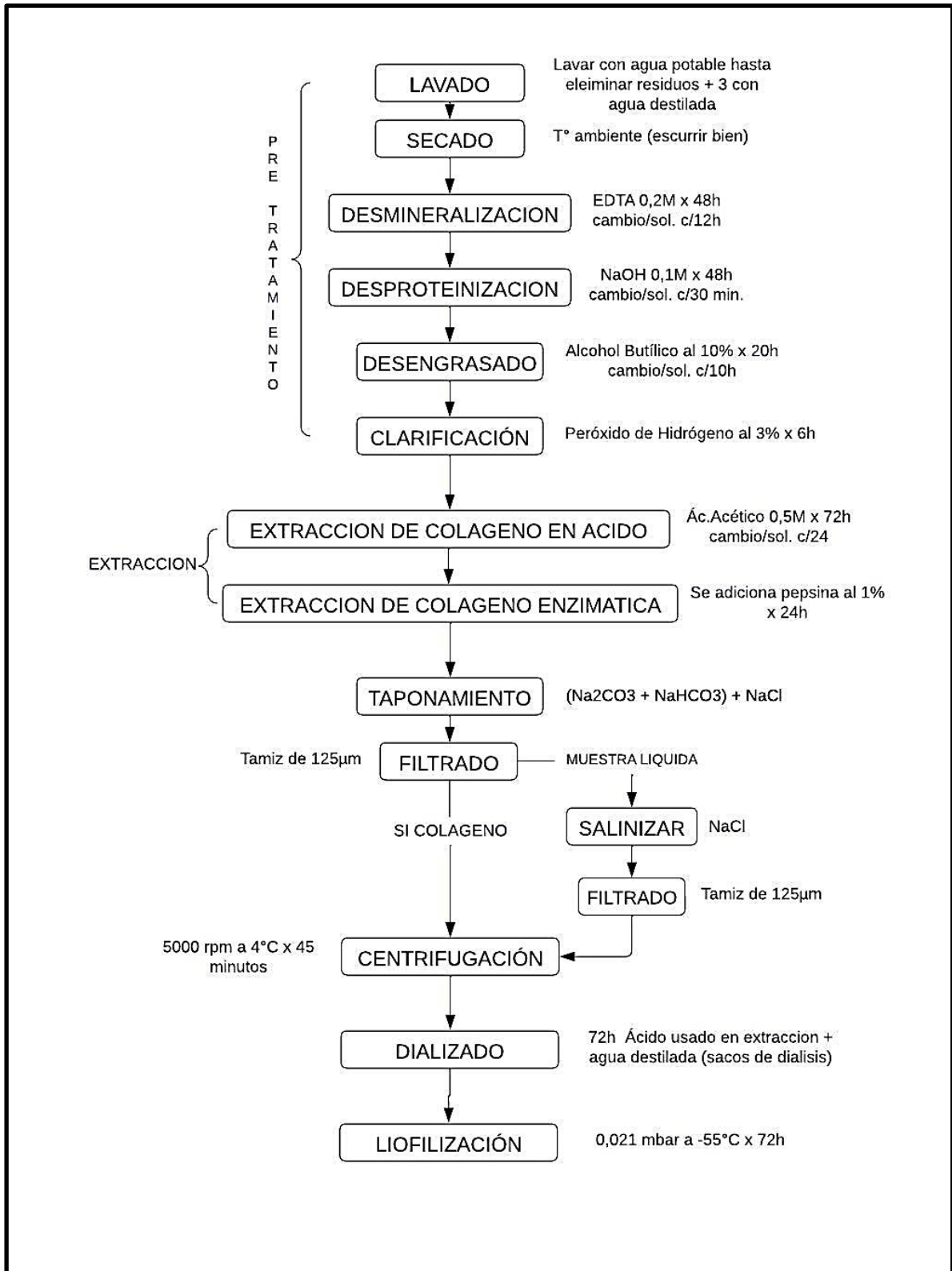
Extracción mixta:

El colágeno se obtiene según el método descrito por Liu et al (2015) (79) con algunas modificaciones tomadas de Rodríguez (2017) (80):

Previo al proceso de extracción, las escamas fueron lavadas con agua potable hasta eliminar residuos, enjuagadas con agua destilada 3 veces y almacenadas a -18°C. El proceso de extracción (Figura 1) comenzó configurando el Baño María a la T° que deseamos para esta investigación a 15°C y 20°C, como siguiente paso se descongeló, enjuago y secó de las escamas a temperatura ambiente. Las escamas limpias y secas fueron sumergidas en una solución de EDTA 0,2M en la proporción escama/solución 1:10 p/v por 72h, con cambio/solución c/12h; al término de cada diferente solución, las escamas fueron enjuagadas con agua destilada. Posteriormente las escamas fueron sumergidas en NaOH al 0.1M (1:10 p/v) por 3h, cambio/solución c/30min. Seguidamente las escamas fueron sumergidas en Alcohol Butílico al 10% por 20h, cambio/sol. c/10h; Luego las escamas fueron sumergidas en Peróxido de Hidrógeno al 3% por 6h; Inicia propiamente la

extracción con Ácido Acético al 0.05M por 72 h, cambio/solución. c/24h; Adicionamos Pepsina al 1% transcurrido las 48h del Ácido. Una vez finalizado el tiempo, se taponó la muestra ((Na₂CO₃ + NaHCO₃) + NaCl) y se dejó reaccionar por 24h; Por consiguiente, se filtró la mezcla con un tamiz de malla metálica de 125 µm de diámetro, para excluir restos de escamas no disueltas. La parte que aún quedó líquida del filtrado, se procedió a Salinizar con NaCl y se dejó reaccionar por 24h para después volver a filtrar y obtener más muestra. Las mezclas resultantes de la filtración se llevaron a centrifugación a una 4°C con velocidad de 5000rpm por 45 minutos; A continuación, Se llevó a dializar la muestra centrifugada por un total de 72h, previo a colocar la muestra en los sacos de diálisis, se solubiliza con el tipo de ácido que se usó para extraer y recién procedemos a cerrar los sacos y purificar con el ácido que se extrajo por 48h y cambio de agua destilada con cambio cada 12h hasta completar el tiempo. Se llevó a congelamiento por 24h a -57°C y para finalizar se llevó a liofilizar la muestra con una presión de 0,021mbar a -55°C por 72h.

Figura 6: Flujograma de extracción de colágeno a partir de escamas de peces de río



➤ **Optimización de la extracción de colágeno obtenido a partir de escamas de peces de agua, mediante el porcentaje de proteína.**

Para optimizar el proceso de extracción de colágeno obtenido a partir de escamas de lisa y boquichico, se realizaron el análisis de proteína de todos los tratamientos realizados.

Utilizando un digestor y un destilador Behrotest K8-SR3 de procedencia Alemana, se llevó a cabo la determinación del contenido de proteínas de acuerdo con los métodos descritos por la AOAC (2012) (76). En primer lugar, se llevó a cabo la digestión, que implicó el pesaje y la adición de 0,1 gramos de muestra seca, 2 gramos de sulfato de potasio y 0,2 gramos de sulfato de cobre a los tubos digestores. A continuación, se añadieron 5 mililitros de ácido sulfúrico concentrado y los tubos digestores se calentaron a 400 grados Celsius durante 90 minutos. Después, se observó una coloración verde transparente, y se dejó enfriar el globo a temperatura ambiente. En la segunda fase, que fue la destilación, se añadieron 30 mililitros de agua destilada y 10 mililitros de hidróxido de sodio con una concentración del 38% a los tubos que se habían enfriado para alcalinizar la solución. A continuación, se introdujo el tubo en el destilador para que se liberara el amoníaco. A continuación, el amoníaco se recogió en un matraz que contenía 5 mililitros de ácido sulfúrico 0,25 N, así como 4 gotas de rojo de metilo como indicador. Tras la destilación de 5 mililitros de líquido, el resultado se valoró con 0,25 N de hidróxido de sodio, y se utilizó el valor de 6,28 como factor de conversión de nitrógeno en proteínas. Para calcular la cantidad de proteína se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$\%N = \frac{(Vol. de \acute{a}c. sulf\acute{u}rico - gasto titulaci\acute{o}n) \times 0.25 \times 0.014}{peso de la muestra} \times 100$$

$$\%P = \%N \times 6.28$$

➤ **Caracterización estructural de colágeno obtenido a partir de escamas de peces de agua dulce mediante FT-IR**

El colágeno liofilizado fue caracterizado mediante la detección de los movimientos vibracionales de los grupos moleculares presentes en el colágeno, utilizando el método de espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier – FTIR, descrito por Matthaus (2008)(81). Las señales se recogieron automáticamente en un rango de 4000 - 400 cm^{-1} a una resolución de 2 cm^{-1} , con el fin de identificar los posibles grupos funcionales y características propias del colágeno.

4.6 Procesamiento y análisis de datos

Los datos recolectados fueron tabulados utilizando el programa estadístico Microsoft Excel. Se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) para determinar si existían o no diferencias estadísticamente significativas entre las medias de nuestros datos. Se compararon los promedios de cada tratamiento, y se realizó una prueba estadística de Tukey a un nivel de significación de p inferior a 0,05 en el programa estadístico RStudio Versión 4.2.1, para establecer el tratamiento óptimo en cuanto al porcentaje de proteína. Por otro lado, para identificar el tipo de colágeno que se extrajo, se utilizó una técnica conocida como espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), y los resultados se presentaron en forma de gráficos que incluían curvas, picos, etc.

4.7 Aspectos éticos

Debido a que la materia prima que formó parte de la investigación fue un remanente del procesamiento de pescado, y fue adquirida en los mercados de abastos de la ciudad de Iquitos, no hubo ningún impacto en la ética o moral de las personas como resultado de la presente investigación. Siguiendo los procedimientos de bioseguridad de los laboratorios de control de calidad, ingeniería de alimentos y microbiología de alimentos de la FIA-UNAP, en este estudio se utilizaron reactivos regulados como ácido sulfúrico y ácido acético, entre otros.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Caracterización de la materia prima

➤ Análisis sensorial de frescura

Las especies hidrobiológicas utilizadas en el proyecto, fueron evaluadas sensorialmente, para determinar su frescura. (Figura 7 y 8).

Figura 7: Análisis sensorial (frescura) de *Prochilodus nigricans* (boquichico).



NOMBRE DEL PESCADO		Boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>)	
FECHA DE PESCA		9/03/2021	
FECHA DE SACRIFICIO		9/03/2021	
ANÁLISIS SENSORIAL DE FRESCURA DE PESCADO			
ITEMS	CUMPLE	NO CUMPLE	EVIDENCIA
PIEL (Color brillante y firme; Mucus transparente)	SI		
OJOS (Convexos, Transparentes, y Brillantes)	SI		
BRANQUIAS (Rojas, bien formadas y Brillantes)	SI		
APARIENCIA MUSCULAR (Firme, Elástica, color uniforme)	SI		
OLOR MUSCULAR (Fresco a río)	SI		
VÍSCERAS (Firmes, bien definido, sin olor fétido)	SI		

Figura 8: Análisis sensorial (frescura) de *Megaleporinus trifasciatus* (lisa).

NOMBRE DEL PESCADO	Lisa (<i>Megaleporinus trifasciatus</i>)		
FECHA DE PESCA	16/03/2021		
FECHA DE SACRIFICIO	16/03/2021		
ANÁLISIS SENSORIAL DE FRESCURA DE PESCADO			
ITEMS	CUMPLE	NO CUMPLE	EVIDENCIA
PIEL (Color brillante y firme; Mucus transparente)	SI		
OJOS (Convexos, Transparentes, y Brillantes)	SI		
BRANQUIAS (Rojas, bien formadas y Brillantes)	SI		
APARIENCIA MUSCULAR (Firme, Elástica, color uniforme)	SI		
OLOR MUSCULAR (Fresco a río)	SI		
VÍSCERAS (Firmes, bien definido, sin olor fétido)	SI		

➤ **Análisis proximal**

Los resultados del análisis proximal de las escamas de pescados muestran valores bajos de humedad siendo la escama de lisa el que tiene menos valor con un $13.29 \pm 0.60\%$ y boquichico con un $14.36 \pm 0.32\%$. También se observa que la escama de lisa tiene mayor contenido de proteína y de ceniza, con valores de $36.59 \pm 1.3\%$ y $38.48 \pm 3.0\%$ respectivamente. Con respecto al valor de los lípidos, la escama de lisa fue la que presento mayor porcentaje, con valor de $1.26 \pm 0.13\%$ (Tabla 3 y Figura 6).

Tabla 3: Análisis proximal de las escamas de boquichico y lisa

Composición centesimal de la materia prima				
Materia prima	Parámetros			
	Humedad (%)	Proteína (%)	Lípido (%)	Ceniza (%)
EB	14.36 ± 0.32^a	35.81 ± 4.50^b	0.27 ± 0.012^b	30.29 ± 0.31^b
EL	13.29 ± 0.60^b	36.59 ± 1.35^a	1.26 ± 0.13^a	38.48 ± 3.03^a

Promedio \pm desvío estadístico (n=3); EL: escama de lisa; EB: escama de boquichico. Nota: Obsérvese que la presencia de varias letras en la misma línea indica una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre las medias que se determinaron mediante la prueba de Tukey.

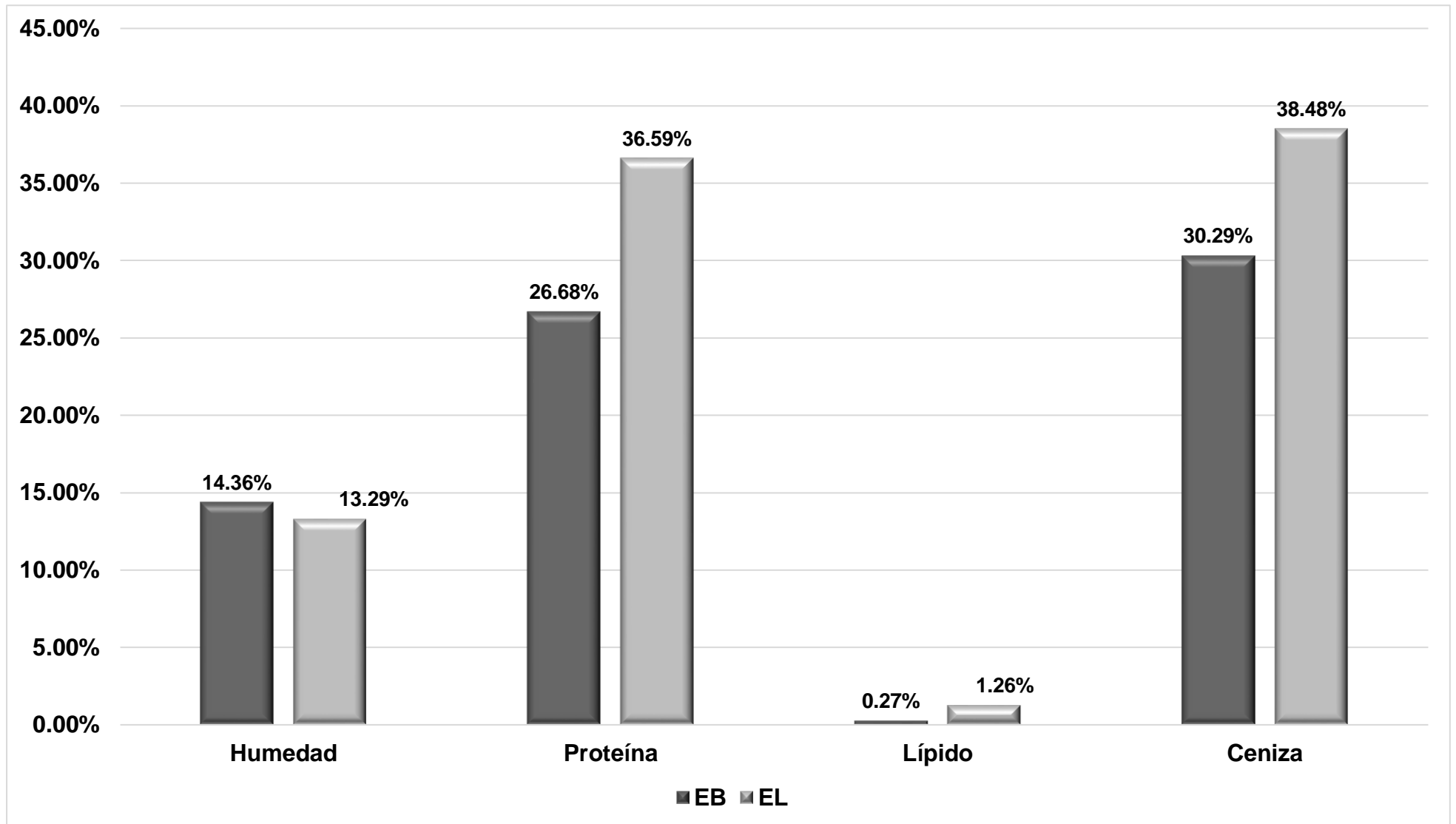


Figura 9: Porcentajes del análisis de la composición centesimal de escamas de peces de río.

➤ **Análisis microbiológico**

Los resultados se muestran en la Tabla 4, según la NTS N° 071 (77), nuestra materia prima se encuentran dentro de los rangos permitidos, siendo óptima para realizar el proceso de extracción.

Tabla 4: Análisis microbiológico de las escamas de boquichico y lisa

Indicadores	Escamas	
	EB	EL
<i>Mesófilos aerobios</i> UFC/gr	1,2X10 ³	2,2X10 ³
<i>Escherichia coli</i> UFC/gr	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/gr	<10	<10
<i>Salmonella sp en 25 gramos</i>	Ausencia	Ausencia

Promedio ± desvío estadístico (n=3); EL: escama de lisa; EB: escama de boquichico.

4.2 Extracción de colágeno

4.2.1 Rendimiento de extracción

La tabla 5 y la figura 2, muestran el porcentaje de rendimiento de extracción de colágeno de escamas de boquichico y lisa. Donde el mayor rendimiento lo reporta la especie boquichico con valores de 11.97±0.09% y 10.38±0.08% para 15°C y 20°C respectivamente.

Tabla 5: rendimiento de extracción de colágeno de boquichico y lisa

Temperatura (°C)	Especie	
	Boquichico	Lisa
15	11.97 ± 0.09 ^{bA}	4.33 ± 0.01 ^{aA}
20	10.38 ± 0.08 ^{bB}	4.58 ± 0.01 ^{aB}

Promedio ± desvío estadístico (n=3). Nota: Obsérvese que la presencia de varias letras en la misma línea indica una diferencia estadísticamente significativa (p <0,05) entre las medias que se determinaron mediante la prueba de Tukey.

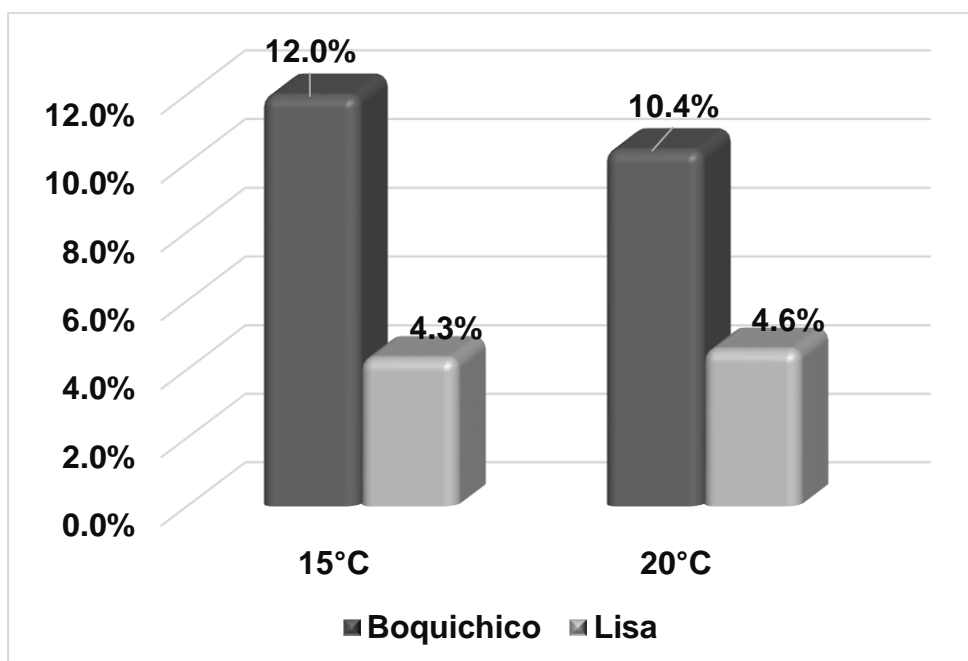


Figura 10: Porcentajes de rendimiento de colágeno extraído a partir de escamas de peces de río.

4.2.2 Optimización de colágeno

La optimización del proceso de extracción, fue determinada con respecto a la concentración de proteína por el método Kjeldahl, donde el tratamiento con mayor porcentaje de proteína ($26.68 \pm 1.08\%$), fue el de lisa a 15°C , extraído con ácido acético y pepsina. También se observa que a 20°C con la misma especie arroja un porcentaje de proteína de $22.11 \pm 1.3\%$ (Tabla 6).

Tabla 6: Optimización de la extracción de colágeno de escamas de boquichico y lisa.

Temperatura (°C)	Especie	
	Boquichico	Lisa
15	18.49 ± 0.61 ^{bA}	26.68 ± 1.08 ^{aA}
20	11.85 ± 0.41 ^{bB}	22.11 ± 1.36 ^{aB}

Promedio \pm desviación estandar (n=3). Nota: Obsérvese que la presencia de varias letras en la misma línea indica una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre las medias que se determinaron mediante la prueba de Tukey.

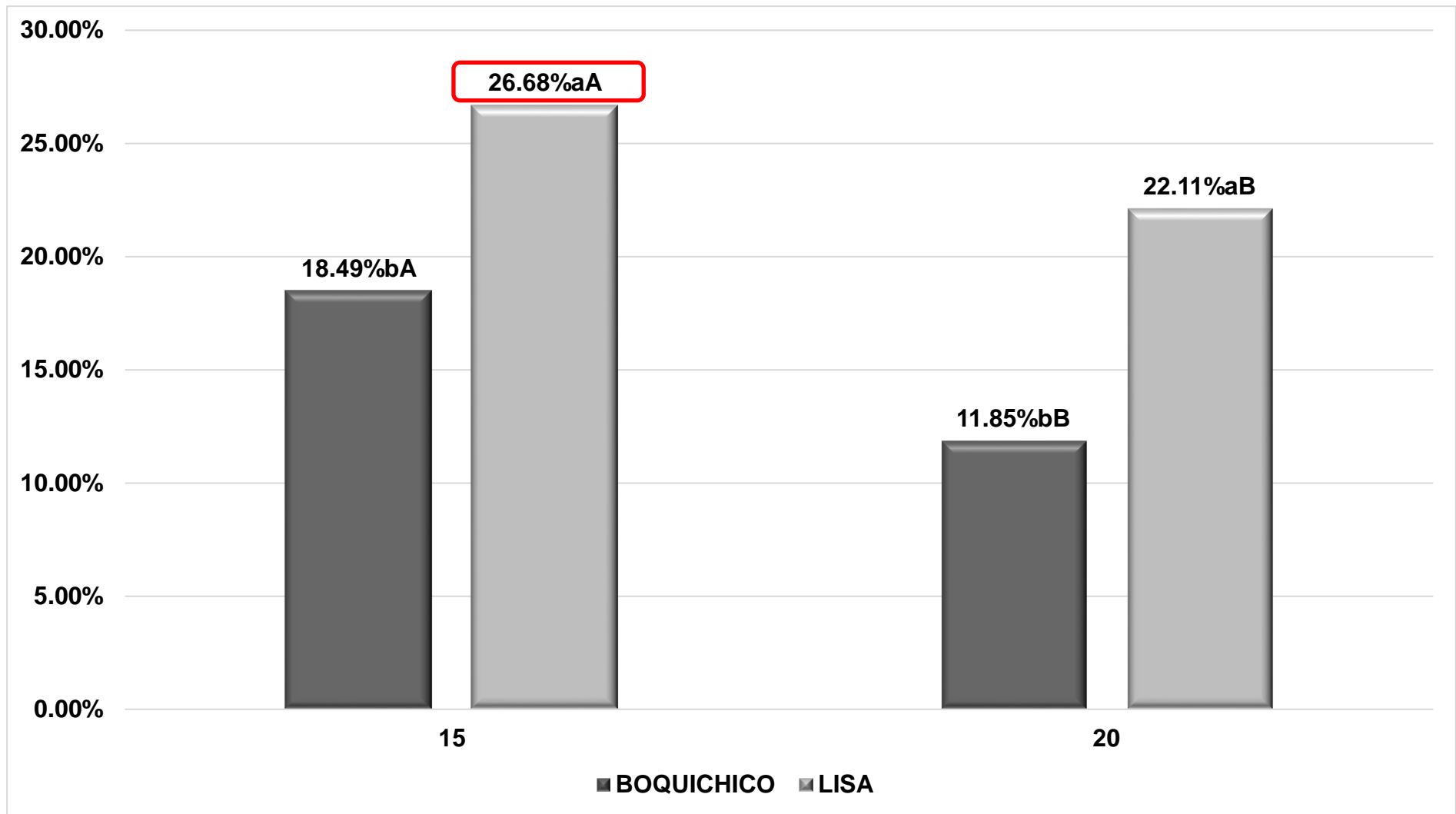


Figura 11: Porcentajes de proteínas de los procesos de extracción

4.2.3 Caracterización estructural de colágeno de escamas de peces de agua dulce, mediante el FT-IR.

El colágeno obtenido del experimento (Ex 3) se caracterizó usando espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier FTIR, donde los resultados fueron comparados con una muestra padrón de colágeno bovino tipo I. El FTIR confirmó la presencia de los grupos funcionales característicos de colágeno, donde los espectros FTIR de colágeno obtenido de las escamas de boquichico y lisa, presentaron bandas de absorción en 3415, y 2918 cm^{-1} correspondiente a una vibración de estiramiento del carbonilo (C=O) a lo largo del esqueleto del polipéptido; 1635 para una amida terciaria; 1546 y 1238 cm^{-1} que son características de una vibración de estiramiento C-N, con flexión NH, es decir de una amida secundaria. La intensidad del estiramiento de este grupo carbonilo, se debe al contenido de hidroxiprolina, siendo este un marcador sensible de la estructura secundaria del grupo peptídico. La bandas de absorción presentado en nuestros resultados, corresponden al enlace peptídico o enlace amida característico de una proteína, responsables de la estructura triple hélice, y coinciden con los datos de la muestra padrón, confirmando que el colágeno obtenido de escamas de peces de agua dulce es colágeno tipo I (Tabla 7).

Tabla 7: análisis FTIR de colágeno de escama de peces de agua dulce y colágeno padrón.

Banda	Datos experimento (Cm^{-1})	Datos padrón (Cm^{-1})
Amida A (Vibraciones de estiramiento N-H con bandas de hidrógeno)	3415	3298
Amida B (Vibración de estiramiento N-H)	2918	2922
Amida I (Vibración, estiramiento de carbonilo C=O)	1635	1636
Amida II (Vibración en carbonilos C=O, enlaces N-H)	1546	1541
Amida III (Vibración de estiramiento C-H)	1238	1233

La figura 12 y 13 muestran el espectro infrarrojo por Transformada de Fourier del colágeno liofilizado de escamas de peces de agua dulce y de colágeno padrón.

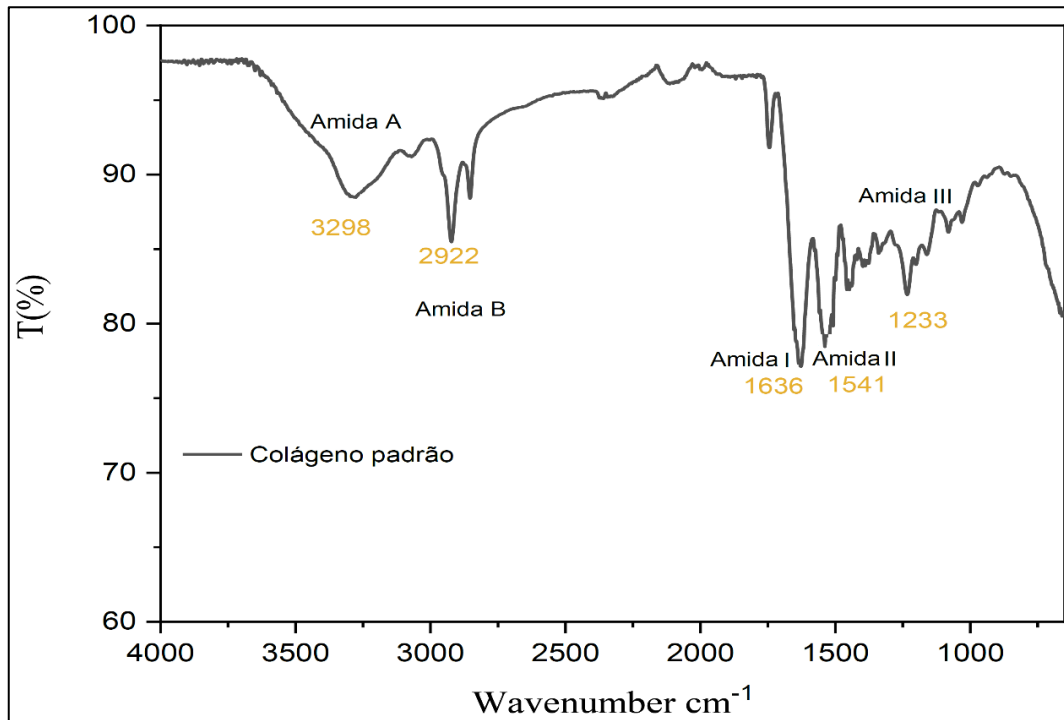


Figura 12: análisis FT-IR de colágeno padrón.

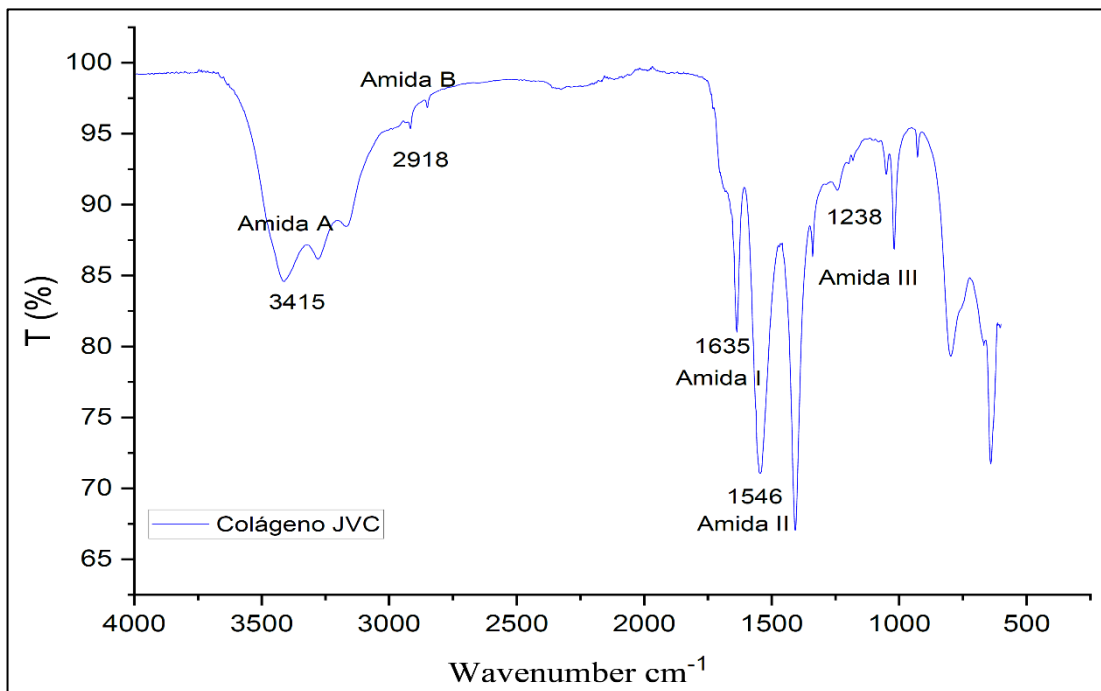


Figura 13: análisis FT-IR de colágeno extraído de escamas de peces de agua dulce.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

La industria pesquera es uno de los sectores alimentarios que suministra una gran cantidad de alimentos a nuestra región. El pescado sigue siendo uno de los alimentos más comercializados en todo el mundo y, al mismo tiempo, la producción pesquera se ha expandido rápidamente a escala mundial (82).

Las escamas de pescado son desechos de procesamiento a granel, representan alrededor del 4% del peso total del pescado. En los últimos años, las sustancias fisiológicamente activas derivadas de productos acuáticos han recibido una atención considerable, ya que estos compuestos normalmente no tienen riesgo de transmisión de enfermedades. Además, muestra una alta disponibilidad, mayor rendimiento y ofrece valor agregado a la industria de procesamiento de pescado (83). Del análisis proximal de escamas de pescado, se obtuvo valores bajos de humedad siendo la escama de lisa el que tiene menos valor ($13.29 \pm 0.60\%$), seguida de boquichico ($14.36 \pm 0.32\%$). Con respecto al contenido de proteínas la escama de lisa tiene el mayor valor ($36.59 \pm 1.35\%$) y boquichico ($35.81 \pm 4.50\%$). Igualmente, para cenizas se reportó que la escama lisa $38.48 \pm 3.03\%$ y boquichico $30.29 \pm 0.31\%$. El estudio de **Quintero y Zapata** (84), sobre extracción de colágeno de escama de tilapia, realizó el análisis fisicoquímico de la escama, donde reporta valores de humedad ($15.18 \pm 0.27\%$) y ceniza ($32.08 \pm 0.23\%$) similares al trabajo, para proteínas ($67.96 \pm 0.19\%$) sus resultados son superiores a nuestro trabajo (36.59 ± 1.35), explicado en parte por las diferencias de métodos de cuantificación de proteínas utilizados en ambos trabajos, cuantificación de hidroxiprolina por espectrofotometría y Kjeldahl.

El colágeno, principal proteína estructural en los vertebrados y una glicoproteína de la matriz extracelular (MEC) bien caracterizada. Hasta la fecha, se identificaron diferentes tipos de colágeno de varios tejidos animales y cada tipo tiene una secuencia de aminoácidos y una estructura molecular distinta. Entre estos, el colágeno tipo I es el hidrocóide macromolecular de importancia comercial más estudiado y utilizado ampliamente en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética, debido a su excelente biocompatibilidad y débil antigenicidad (85).

La técnica experimental empleada dio buenos resultados en la extracción de colágeno a partir de escamas de pescado. Esta metodología experimental es una metodología práctica porque, además de proporcionar a estos residuos cierto grado de relevancia, contribuye a minimizar la contaminación ambiental y nos libera de los óxidos de trimetilamina (83) producidos por la descomposición bacteriana de dichos desechos (escamas). Se logró obtener parámetros de extracción, siendo el mejor tratamiento con ácido acético más pepsina a 15°C en la especie Lisa, que reporto mayor porcentaje de proteínas (26.68±1.08%). Dicha metodología utilizada es factible para extraer colágeno de escamas de pescado de agua dulce. La mayoría de autores revisados en los antecedentes utilizan temperaturas de extracción de 4°C, otros incluso recomiendan temperaturas por debajo de 15°C, sin embargo, los experimentos demostraron que la mejor temperatura de extracción es entre 15° y 20°C, al contrario, **Aukkanit et al.** (86) en su extracción de colágeno de la piel del pescado ronco plateado (*Haemulon parra*) a temperaturas de 4, 10, 20 y 28 °C, la extracción a 10 °C dio el mayor rendimiento de colágeno, sin embargo la extracción a 20 y 28 °C resultó en la formación de fragmentos peptídicos de bajo peso molecular, reduciendo el rendimiento del colágeno tipo I. Estos cambios del rendimiento de extracción, están muy diferenciados, de acuerdo al origen del pescado (aguas frías y templadas), en su estudio **Takahashi y Yokoyama** (87), menciona el hecho que las especies tropicales poseen mayor temperatura de desnaturalización del colágeno que de aguas frías o templadas (87).

De la caracterización del colágeno mediante el FT-IR, se consigue obtener colágeno de tipo I, donde las bandas de absorción corresponden al enlace peptídico o enlace amida característico de una proteína, dato confirmado con la muestra padrón (colágeno bovino tipo I), los datos obtenidos de absorción son 3415, y 2918 cm⁻¹ lo que corresponde a vibración de estiramiento del carbonilo (C=O), 1635 para amida terciaria; 1546 y 1238 cm⁻¹ que son características de vibración de estiramiento C-N, con flexión NH, de una amida secundaria. Estudios reciente con resultados similares al nuestro de **Chien-Hui et al.** (88), al realizar el análisis de FTIR de colágeno obtenido de escama de tilapia, sus resultado muestra que FSC y CCr tienen

tres picos de absorción comunes de colágeno tipo I, que son 1668 cm^{-1} (Amides I, C doble enlace O), 1550 cm^{-1} (Amides II, NH) y 1245 cm^{-1} (Amides III, -CN), y también tienen picos de absorción similares de hidroxiapatita. Otro estudio de **Sijin Chen et al.** (89), quien estudio las características composicional y estructural de colágeno tipo I obtenido de las escamas de corvina roja (*Sciaenops ocellatus*), donde se muestran espectros FTIR del PSC tipo I. Los recuadros muestran la banda de amida I en el rango de 1600 a 1700 cm^{-1} , con componentes de banda ajustados y el porcentaje de estructura secundaria. Estos resultados tienen un patrón espectral similar al colágeno aislado de escamas de *Sciaenops ocellatus* estudiado por **Chen et al.** (90) y el colágeno de otras especies marinas reportado por **Nagai et al.** (91), como la amida B, amida II, amida III, y las bandas relacionadas con los tripéptidos de colágeno (Gly-Pro-Hyp). Entre estos, la relación de absorción de IR fue de $\sim 1,0$ entre 1240 (amida III) y 1454 cm^{-1} bandas, y así confirmó que el PSC tipo I mantuvo la triple hélice integrada de colágeno y un alto grado de estructura intermolecular. También tenemos el estudio de **Chun-Yung et al.**(92), quien también caracterizo colágeno obtenido de escama de tilapia, el estudio reveló que los espectros FTIR de colágeno poseían cinco bandas de adsorción principales en la región de la banda de amida, incluidas 1644–1653 cm^{-1} (amida I), 1541–1548 cm^{-1} (amida II), 1237–1239 cm^{-1} (amida III), 3304–3315 cm^{-1} (amida A) y 2922–2940 cm^{-1} (amida B), similares a nuestro resultado. Por otro lado **Pati et al.** (93), quien extrajo colágeno de escama de *Labeo rohita* (Rohu) y *Catla catla* (Catla), reporto picos de los espectros FTIR, que muestran una banda amida I, con frecuencias características en el rango de 1600 a 1700 cm^{-1} , se asoció principalmente con vibraciones de estiramiento de los grupos carbonilo (doble en enlace C=O) a lo largo del, que es una banda sensible marcador de la estructura secundaria del péptido. **Sankar et al.** (94), caracterizo colágeno de escamas de pescado *Lates calcarifer*, el espectro IR del colágeno o ha mostrado picos de amida en 1676 y 1255 cm^{-1} , que representan amida-I y -III, respectivamente, y picos en 1038 y 1176 cm^{-1} representan la flexión P-H y el estiramiento del fosfato, respectivamente, lo que indica la presencia de sales de calcio. El pico prominente en 2927 cm^{-1} y el hombro en 2861 cm^{-1} representan las vibraciones de estiramiento CH₂-CH₃, que son características

del colágeno. También tenemos el estudio de **Jaimes et al.** (95), quien extrajo colágeno de escama de *pomadasys incisus* (roncador), mostrando el análisis de FTIR, bandas de absorción en 3273,8 cm⁻¹ y 1631,2 cm⁻¹ que significa vibración de estiramiento del carbonilo C=O, 1240,2 cm⁻¹ y 1114,6 cm⁻¹ para una amida terciaria, estas bandas de absorción corresponden al enlace peptídico o enlace amida característico de una proteína. Asimismo tenemos el estudio de **Silvera** (96), extrajo colágeno de piel de tilapia, el estudio reveló los espectros FTIR de colágeno, en el número de onda a 3284.66 cm⁻¹, lo que indica la características de la estructura triple hélice de colágeno..

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- Se logró determinar los parámetros para el proceso de extracción del colágeno a partir de escamas de lisa y boquichico, obteniéndose que el experimento (Ex3) tiene un mayor porcentaje de proteínas (26.68%) con respecto a los demás tratamientos.
- Se determinó el rendimiento de extracción, encontrándose el mayor rendimiento en la especie boquichico a 15°C y 20°C.
- El análisis de FTIR del colágeno extraído de las escamas de peces de río, menciona que el colágeno obtenido es colágeno tipo I, con bandas de absorción que corresponden al enlace peptídico o enlace amida característico de una proteína. Los datos de las bandas detectadas en nuestra muestra de colágeno coinciden con los datos de la muestra patrón, entonces se presume que, dentro de la composición de aminoácidos, nuestro colágeno tiene aminoácidos como la prolina, hidroxiprolina, y glicina, aminoácidos característicos del colágeno tipo I.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- Los Egresados de La Facultad de Industrias Alimentarias realicen futuras investigaciones con respecto a la extracción de colágeno de escamas de peces de río, donde se incluyan otras especies, otras temperaturas, otros tipos de ácidos a diferentes concentraciones.
- Realizar la caracterización nutricional del colágeno, donde se indique, el porcentaje de proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, y minerales.
- Analizar el perfil de aminoácidos del colágeno obtenido, para determinar la composición exacta de aminoácidos de los péptidos presentes en el colágeno.
- Es importante realizar estudios en humanos, con respecto a la efectividad de este en su salud, para futuras aplicaciones en el campo de la industria alimentaria y farmacéutica,
- Realizar una evaluación económica con el fin de evaluar su producción a escala industrial.

CAPÍTULO VIII: BIBLIOGRAFÍA

1. Loreto GR De, Mateo S, Arana CC, Flor AGP. Estrategia Regional de la Diversidad Biológica de Loreto. 2005;
2. Diagnostico I. Actividad pesquera y acuícola en la región loreto. 2004;1–19.
3. Ministerio de la producción. Programa Nacional “A comer pescado”- Reporte informativo, Loreto. 2014;1–4.
4. Población amazónica consume alrededor de 80,000 toneladas de pescado al año | Noticias | Agencia Peruana de Noticias Andina [Internet]. [cited 2022 Jul 7]. Available from: <https://andina.pe/agencia/noticia-poblacion-amazonica-consume-alrededor-80000-toneladas-pescado-al-ano-726956.aspx>
5. Barrenechea Cisneros EJ. “Aprovechamiento de la piel de paiche (Arapaima gigas) para la obtención de colágeno.” Univ Nac Agrar La Molina. 2019;
6. Victor Libardo HN, Yenith Maryori H, David Alberto G. Efecto del uso de la escama de pescado en la alimentación de codornices sobre la calidad del huevo Effect of use fish scale in feed quail on quality egg. :59–69.
7. Gomez-Guillen MC, Gimenez B, Lopez-Caballero ME, Montero MP. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. Food Hydrocoll [Internet]. 2011;25(8):1813–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007>
8. Chen S, Hong Z, Wen H, Hong B, Lin R, Chen W, et al. Compositional and structural characteristics of pepsin-soluble type I collagen from the scales of red drum fish, *Sciaenops ocellatus*. Food Hydrocoll [Internet]. 2022;123(July 2021):107111. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107111>
9. García-Sifuentes CO, Zamorano-Apodaca JC, Martínez-Porchas M, Scheuren-Acevedo SM, Mazorra-manzano MA. Isolation and properties of collagen extracted from mixed by-products obtained from different fish

- species. *Rev Ciencias Biológicas y la Salud*. 2021;XXIII(3):109–16.
10. Hamdan FS, Sarbon NM. Isolation and characterisation of collagen from fringescale sardinella (*Sardinella fimbriata*) waste materials. *Int Food Res J*. 2019;26(1):133–40.
 11. Md Zin NH, Abdul Wahab W, Nur Ariffin N. Extraction of Collagen and Gelatin From the Scales of Different Freshwater Fish. *Int J Allied Heal Sci* [Internet]. 2019;3(2):894–903. Available from: <https://journals.iium.edu.my/ijahs/index.php/IJAHS/article/view/187>
 12. Chinh NT, Manh VQ, Trung VQ, Lam TD, Huynh MD, Tung NQ, et al. Characterization of collagen derived from tropical freshwater carp fish scale wastes and its amino acid sequence. *Nat Prod Commun*. 2019;14(7).
 13. Alzamora Mendoza JR, Pamela RPS, Silva Gonzalez DC. obtencion y caracterizacion de colageno a base de escamas de mero (*Acanthistius pictus*). Universidad Nacional de Piura; 2019.
 14. Ramón K. Extracción y caracterización de colágeno de piel de paiche. Universidad Federal Do Amazonas; 2018.
 15. Tan Y, Chang SKC. Isolation and characterization of collagen extracted from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin. *Food Chem* [Internet]. 2018;242(September):147–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.013>
 16. Olatunji O, Denloye A. Temperature-dependent extraction kinetics of hydrolyzed collagen from scales of croaker fish using thermal extraction. *Food Sci Nutr*. 2017;5(5):1015–20.
 17. Hu Z, Yang P, Zhou C, Li S, Hong P. Marine collagen peptides from the skin of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): Characterization and wound healing evaluation. *Mar Drugs*. 2017;15(4).
 18. Wang L, Yang B, Du X, Yang Y, Liu J. Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2008;9(4):604–7.

19. Huang CY, Kuo JM, Wu SJ, Tsai HT. Corrigendum to “Isolation and characterization of fish scale gelatin from tilapia (*Oreochromis* sp.) by a novel extrusion–hydro-extraction process” (Food Chem. 190 (1) (2016) 997–1006) (S0308814615009589) (10.1016/j.foodchem.2015.06.066). Food Chem. 2016;196:1368.
20. Salas A, Barriga M, Albrecht-Ruiz M. Información nutricional sobre algunos peces comerciales de la Amazonía peruana. Inst Tecnol la Prod. 2009;
21. Iannacone J, Alvariño Flores L. Metazoos parásitos de mugil cephalus linnaeus, 1758 (mugilidae: perciformes) procedentes del terminal pesquero de Chorrillos, Lima, Perú. Neotrop Helminthol. 2009;3(1):15–27.
22. Ruiz VH. Peces: Generalidaddes sobre su biología y clasificación. In: Biología Marina y Oceanografía: Conceptos y Procesos. 2004. p. 31.
23. Christopher K. M, Kensal E. H Van, Kevin G. A. Bioquímica. Tercera Ed. Addison W, editor. Madrid, España: Pearson Educación; 2002. 1374 p.
24. Serrano Gaona JC. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis* sp) y cachama (*Piaractus brachypomus*) / Standardization of a process for extracting collagen from filleting waste from tilapia (*Oreochromis*. Universidad Nacional de Colombia; 2011.
25. Fu C, Shi S, Tian J, Gu H, Yao L, Xiao J. Non-denatured yak type I collagen accelerates sunburned skin healing by stimulating and replenishing dermal collagen. Biotechnol Reports [Internet]. 2023;37(November 2022):e00778. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00778>
26. Lane EB. Keratins. Connect Tissue its Heritable Disord Mol Genet Med Asp. 2002;329–41.
27. Prockop D., Guzmán N. EDUCACION MEPICA CONTINUADA El colágeno. Educ Mepica Contin. 1981;Nº191:1.
28. Gómez Lizárraga K, Piña Barba C, Rodríguez Fuentes N. Obtención y

- caracterización de colágena tipo I a partir de tendón bovino. *Superf y vacío*. 2011;24(4):137–40.
29. Torra i Bou J-E, Martínez Cuervo F, Casaroli-Marano R, Reina M, Vilaró S. El uso del colágeno en la cicatrización de las heridas. Vol. 23, *Revista ROL de enfermería*. 2000. p. 715–26.
 30. Hashim P, Mohd Ridzwan MS, Bakar J, Mat Hashim D. Collagen in food and beverage industries. *Int Food Res J*. 2015;22(1):1–8.
 31. Ferraro V, Gaillard-Martinie B, Sayd T, Chambon C, Anton M, Santé-Lhoutellier V. Collagen type I from bovine bone. Effect of animal age, bone anatomy and drying methodology on extraction yield, self-assembly, thermal behaviour and electrokinetic potential. *Int J Biol Macromol*. 2017;97:55–66.
 32. Paschou AM, Katsikini M, Christofilos D, Arvanitidis J, Ves S. High pressure Raman study of type-I collagen. Vol. 285, *FEBS Journal*. 2018. 2641–2653 p.
 33. Fauzi MB, Lokanathan Y, Aminuddin BS, Ruszymah BHI, Chowdhury SR. Ovine tendon collagen: Extraction, characterisation and fabrication of thin films for tissue engineering applications. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2016;68:163–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.109>
 34. León-López A, Morales-Peñaloza A, Martínez-Juárez VM, Vargas-Torres A, I Zeugolis D, Aguirre-Álvarez G. Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications. *Molecules*. 2019;24(4031):1–16.
 35. Najafian L, Babji AS. A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: their production, assessment, and applications. *Peptides*. 2012 Jan;33(1):178–85.
 36. Santana RC, Perrechil FA, Sato ACK, Cunha RL. Emulsifying properties of collagen fibers: Effect of pH, protein concentration and homogenization pressure. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2011;25(4):604–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.07.018>
 37. Guo L, Harnedy PA, Zhang L, Li B, Zhang Z, Hou H, et al. In vitro

- assessment of the multifunctional bioactive potential of Alaska pollock skin collagen following simulated gastrointestinal digestion. *J Sci Food Agric*. 2015;95(7):1514–20.
38. Pal GK, Suresh P V. Sustainable valorisation of seafood by-products: Recovery of collagen and development of collagen-based novel functional food ingredients. *Innov Food Sci Emerg Technol* [Internet]. 2016;37(Part B):201–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.03.015>
 39. Wang W, Chen M, Wu J, Wang S. Hypothermia protection effect of antifreeze peptides from pigskin collagen on freeze-dried *Streptococcus thermophiles* and its possible action mechanism. *Lwt* [Internet]. 2015;63(2):878–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.007>
 40. Ibrahim FN, Ismail-Fitry MR, Yusoff MM, Shukri R. Effects of fish collagen hydrolysate (FCH) as fat replacer in the production of buffalo patties. *J Adv Res Appl Sci Eng Technol*. 2018;11(1):108–17.
 41. Furtado M, Chen L, Chen Z, Chen A, Cui W. Development of fish collagen in tissue regeneration and drug delivery. *Eng Regen* [Internet]. 2022;3(3):217–31. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2022.05.002>
 42. Subhan F, Hussain Z, Tauseef I, Shehzad A, Wahid F. A review on recent advances and applications of fish collagen. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2021;61(6):1027–37. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1751585>
 43. Pal GK, Suresh P V. Sustainable valorisation of seafood by-products: Recovery of collagen and development of collagen-based novel functional food ingredients. *Innov Food Sci Emerg Technol* [Internet]. 2016;37:201–15. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856416300480>
 44. Silva TF da, Penna ALB. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2012;71(3):530–9.

45. Araújo ÍBS, Lima DAS, Pereira SF, Madruga MS. Quality of low-fat chicken sausages with added chicken feet collagen. *Poult Sci.* 2019;98(2):1064–74.
46. Bilek SE, Bayram SK. Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen. *J Funct Foods* [Internet]. 2015;14:562–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.024>
47. Gerhardt Â, Monteiro BW, Gennari A, Lehn DN, Souza CFV de. Características físico-químicas e sensoriais de bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de ricota e colágeno hidrolisado. *Rev do Inst laticínios Cândido Torres.* 2013;41–50.
48. da Mata Rigoto J, Ribeiro THS, Stevanato N, Sampaio AR, Ruiz SP, Bolanho BC. Effect of açai pulp, cheese whey, and hydrolysate collagen on the characteristics of dairy beverages containing probiotic bacteria. *J Food Process Eng.* 2019;42(1):1–10.
49. Prestes RC, Carneiro EBB, Demiate IM. Hydrolyzed collagen, modified starch and guar gum addition in turkey ham TT - Adição de colágeno hidrolisado, amido modificado e goma guar em presunto de peru. *Ciência Rural* [Internet]. 2012;42(7):1307–13. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782012000700027&lang=pt%5Cnhttp://www.scielo.br/pdf/cr/v42n7/a18412cr5486.pdf
50. ITP. Residuos de la pesca: aprovechamiento y valor agregado. *Bol Vigil Ténológica* [Internet]. 2018;32. Available from: https://www.itp.gob.pe/archivos/vtic/PESCA_001-2018.pdf
51. Tisserand R, Young R. Kinetics and dosing [Internet]. 2nd ed. *Essential Oil Safety*. © 2014 Robert Tisserand and Rodney Young.; 2014. 39–67 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-443-06241-4.00004-7>
52. Calejo MT, Almeida AJ, Fernandes AI. Exploring a new jellyfish collagen in the production of microparticles for protein delivery. *J Microencapsul.* 2012;29(6):520–31.

53. Liu D, Wei G, Li T, Hu J, Lu N, Regenstein JM, et al. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chem* [Internet]. 2015;172:836–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.147>
54. Smith DR, Nordberg M. *General Chemistry, Sampling, Analytical Methods, and Speciation* [Internet]. Fourth Edi. Vol. 1, *Handbook on the Toxicology of Metals: Fourth Edition*. Elsevier; 2015. 15–44 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-59453-2.00002-0>
55. Zambrowicz A, Timmer M, Polanowski A, Lubec G, Trziszka T. Manufacturing of peptides exhibiting biological activity. *Amino Acids*. 2013;44(2):315–20.
56. Marciniak A, Suwal S, Naderi N, Pouliot Y, Doyen A. Enhancing enzymatic hydrolysis of food proteins and production of bioactive peptides using high hydrostatic pressure technology. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2018;80:187–98. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.013>
57. Wang B, Wang YM, Chi CF, Luo HY, Deng SG, Ma JY. Isolation and characterization of collagen and antioxidant collagen peptides from scales of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Mar Drugs*. 2013;11(11):4641–61.
58. Yu D, Chi CF, Wang B, Ding GF, Li ZR. Characterization of acid-and pepsin-soluble collagens from spines and skulls of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Chin J Nat Med*. 2014;12(9):712–20.
59. Li D, Mu C, Cai S, Lin W. Ultrasonic irradiation in the enzymatic extraction of collagen. *Ultrason Sonochem* [Internet]. 2009;16(5):605–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.02.004>
60. Kim HK, Kim YH, Kim YJ, Park HJ, Lee NH. Effects of ultrasonic treatment on collagen extraction from skins of the sea bass *Lateolabrax japonicus*. *Fish Sci*. 2012;78(2):485–90.
61. Skopinska-Wisniewska J, Olszewski K, Bajek A, Rynkiewicz A,

- Sionkowska A. Dialysis as a method of obtaining neutral collagen gels. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2014;40:65–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.03.029>
62. Dutta A. Fourier Transform Infrared Spectroscopy [Internet]. Vol. 2, *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*. Elsevier Inc.; 2017. 73–93 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-46140-5.00004-2>
 63. Pe IJ, Ojeda-lo R, Silanol AÁCÁS-Á. SBA-15 materials: calcination temperature influence on textural properties and total silanol ratio. *Adsorption*. 2015;21:659–69.
 64. Mohamed MA, Jaafar J, Ismail AF, Othman MHD, Rahman MA. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy [Internet]. *Membrane Characterization*. Elsevier B.V.; 2017. 3–29 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00001-2>
 65. Hishida H, Ishitani A. *Industria I Applications of FT-I R*. In: *Material Scieencie Laboratories*. Japan; 1990. p. 44.
 66. Marcott C, Padalkar M, Pleshko N. 3.23 Infrared and raman microscopy and imaging of biomaterials at the micro and nano scale. *Compr Biomater II*. 2017;3(November 2016):498–518.
 67. Hosseini H, Jafari SM. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy of nanoencapsulated food ingredients [Internet]. *Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients*. Elsevier Inc.; 2020. 347–410 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-815667-4.00011-0>
 68. Grunenwald A, Keyser C, Sautereau AM, Crubézy E, Ludes B, Drouet C. Revisiting carbonate quantification in apatite (bio)minerals: A validated FTIR methodology. *J Archaeol Sci*. 2014;49(1):134–41.
 69. FAO. Guías alimentarias Pirámide Alimentaria. *Aliment Saludab* [Internet]. 2010;1:28. Available from: <http://www.fao.org/3/am401s/am401s02.pdf%0Ahttp://www.fao.org/docrep/014/am401s/am401s02.pdf>
 70. Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. Characterisation of acid soluble

collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chem.* 2004;85(1):81–9.

71. Miranda R. *Escamas de Peces.* 2002;3.
72. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación-FAO. *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) [Mugilidae]. 2009.
73. Flores-Gómez S. *Biología de boquichico Prochilodus nigricans del río ucajali (PUCALLPA - PERÚ).* 2014;(September):1–2. Available from: https://www.researchgate.net/publication/327688440_BIOLOGIA_DE_BOQUICHICO_Prochilodus_nigricans_del_rio_ucayali_pucallpa_-_peru
74. Hernández Rodríguez M, Sastre Gallego A. *Tratado de nutrición - Manuel Hernández Rodríguez, Ana Sastre Gallego - Google Libros.* 1999. p. 1496.
75. Balbuena E. *Manual básico sobre procesamiento e inocuidad de productos de la acuicultura.* FAO Fisheries and Aquaculture. Asunción: FAO; 2014. 1–70 p.
76. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *Official Method of Analysis Association of Analytical Chemists.* 19th Edition, Washington DC. 2012.
77. Ministerio de Salud del Perú, Dirección General de Salud. *Norma Técnica Sanitaria N°071 - MINSA/DIGESA-V.01 “Que establece los Criterios Microbiológicos de Alimentos y Bebidas de Consumo Humano.”* 2008.
78. Collins CH, M. Lyne P. *Métodos Microbiológicos.* 2nd ed. Vol. 1. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A; 1989.
79. Liu D, Zhang X, Li T, Yang H, Zhang H, Regenstein JM, et al. Extraction and characterization of acid- and pepsin-soluble collagens from the scales, skins and swim-bladders of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Biosci.* 2015;9:68–74.
80. Rodríguez Aranda A, López Villaseñor R, Ramírez Barragán C, Andrade Ortega J. *Propuesta para extracción de colágeno soluble en ácido*

- (CSA) de escamas de tilapia del Nilo. *Eidtorial Coloq Investig Multidiscip.* 2017;5(2):1059–66.
81. Matthäus C, Bird B, Miljković M, Chernenko T, Romeo M, Diem M. Infrared and Raman Microscopy in Cell Biology. *Methods Cell Biol.* 2008;89(08):275–308.
 82. Food Agriculture Organization. El estado de la pesca y la agricultura [Internet]. Vol. 3, *Marine Pollution Bulletin.* 2020. 165–171 p. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.01.032><http://dx.doi.org/10.1016/j.tws.2012.02.007><http://www.fao.org/publications/es>
 83. Wu RB, Wu CL, Liu D, Yang XH, Huang JF, Zhang J, et al. Antioxidant and anti-freezing peptides from salmon collagen hydrolysate prepared by bacterial extracellular protease. *Food Chem* [Internet]. 2018;248(September 2017):346–52. Available from:
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.035>
 84. Quintero J, Zapata JE. Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. *Inf Technol.* 2017;28(1):109–20.
 85. Zin ZM, Sarbon NM, Zainol MK, Jaafar SN, Shukri MM, Rahman AHA. Halal and Non-Halal Gelatine as a Potential Animal By-Products in Food Systems: Prospects and Challenges for Muslim Community. In: *First International Conference on Science, Technology, Engineering and Industrial Revolution (ICSTEIR 2020).* Atlantis Press; 2021. p. 530–40.
 86. Aukkanit N, Garnjanagoonchorn W. Temperature effects on type I pepsin-solubilised collagen extraction from silver-line grunt skin and its in vitro fibril self-assembly. *J Sci Food Agric.* 2010;90(15):2627–32.
 87. Takahashi T, Yokoyama W. Physico-Chemical Studies on the Skin and Leather of Marine Animals-xil The Content of Hydroxyproline in the Collagen of Different Fish Skins T. *Japanese Soc Sci Fish* [Internet]. 1954;20(6):0–4. Available from:
https://www.jstage.jst.go.jp/article/suisan1932/20/6/20_6_525/_pdf/

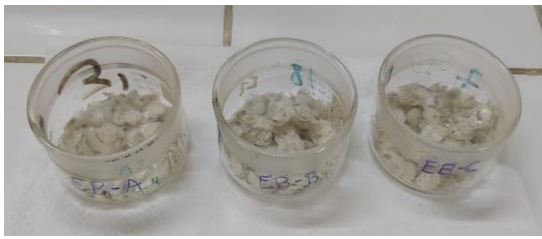
char/en

88. Wu C-H, Guo H-R, Patel AK, Singhanian RR, Chen Y-A, Kuo J-M, et al. Production and characterization of lucrative hypoglycemic collagen-peptide-chromium from tilapia scale. *Process Biochem* [Internet]. 2022;115:10–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511322000484>
89. Chen S, Hong Z, Wen H, Hong B, Lin R, Chen W, et al. Compositional and structural characteristics of pepsin-soluble type I collagen from the scales of red drum fish, *Sciaenops ocellatus*. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2022;123:107111. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X21005270>
90. Chen S, Chen H, Xie Q, Hong B, Chen J, Hua F, et al. Rapid isolation of high purity pepsin-soluble type I collagen from scales of red drum fish (*Sciaenops ocellatus*). *Food Hydrocoll* [Internet]. 2016;52:468–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.027>
91. Nagai T, Suzuki N, Nagashima T. Collagen from common minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) unesu. *Food Chem*. 2008;111(2):296–301.
92. Huang CY, Kuo JM, Wu SJ, Tsai HT. Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis* sp.) by a novel extrusion-hydro-extraction process. *Food Chem* [Internet]. 2016;190:997–1006. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.066>
93. Pati F, Adhikari B, Dhara S. Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability. *Bioresour Technol* [Internet]. 2010;101(10):3737–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.133>
94. Sankar S, Sekar S, Mohan R, Rani S, Sundaraseelan J, Sastry TP. Preparation and partial characterization of collagen sheet from fish (*Lates calcarifer*) scales. *Int J Biol Macromol*. 2008;42(1):6–9.
95. Acevedo D, Montero PM, Jaimes JDC. Determinación de antibióticos y calidad microbiológica de la carne de pollo comercializada en Cartagena (Colombia). *Inf Tecnol*. 2015;26(1):71–6.

96. Silvera M. Determinación de los parametros óptimos para la extracción y caracterización del colágeno a partir de piel de tilapia (*Oreochromis niloticus*) [Internet]. Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac; 2018. Available from: [file:///E:/Investigacion 2/articulos/concytec.pdf](file:///E:/Investigacion%20articulos/concytec.pdf)

ANEXOS

HUMEDAD DE ESCAMAS



CENIZAS DE ESCAMAS



PROTEINAS DE ESCAMAS



Escamas de Boquichico



Escamas de Lisa



Lavado y Secado a T° Ambiente de Escamas



DESMINERALIZACION CON EDTA (La solución se torna color negro)



DESPROTEINIZACION con NaOH (solución mucho más clara con los cambios y escamas comienzan a tornarse ligeramente amarillas)



DESENGRASADO con Alcohol Butílico



CLARIFICACION con Peróxido de Hidrógeno



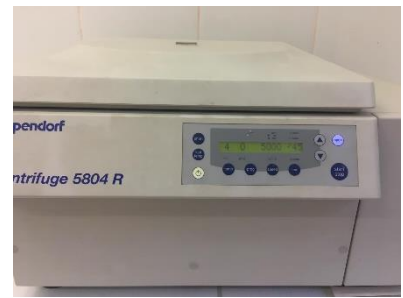
EXTRACCION CON ACIDO + PEPSINA



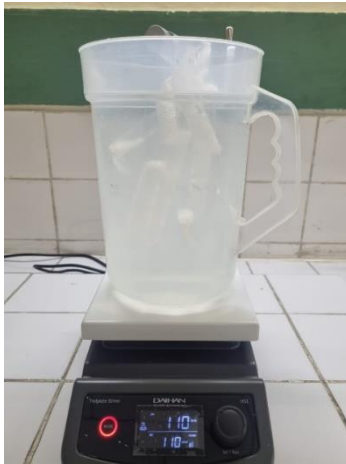
TAPONAMIENTO – TAMIZAJE



CENTRIFUGACION



DIALISIS



LIOFILIZACION



COLÁGENO

