

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

**ELABORACIÓN DE BIOPELÍCULAS COMESTIBLES A PARTIR DE
GELATINA DE COLÁGENO OBTENIDA DE LA PIEL Y ESCAMAS DE LA
CORVINA (*ARGYROSOMUS REGIUS*)**

Disertación previa a la obtención del título de Química

SAMANTHA MONSERRATH GARCÍA VELASCO

Quito, 2023

CERTIFICACIÓN

Yo, Julio Vinueza con cédula de identidad 1709164980, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “Elaboración de biopelículas comestibles a partir de gelatina de colágeno obtenida de la piel y escamas de la corvina (*Argyrosomus Regius*), realizado por Samantha Monserrath García Velasco, obteniendo un trabajo experimental que cumple con todos los requisitos estipulados por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Atentamente

Dr. Julio Vinueza
Director de la Disertación
1709164980
Quito, 2023

DEDICATORIA

Las cosas más valiosas nunca son fáciles, pero con sus sacrificios y apoyo todo se pudo.

Gracias

Mamá Y Papá

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, por ser incondicional, confiar en mí y enseñarme a esforzarme cada día.

A mi papá, por ser mi ejemplo, por enseñarme a ser perseverante y no rendirme.

A mis hermanas, por creer en mí, comprenderme y ser un apoyo diario.

A mi abuelita, por amarme y cuidarme.

A mi sobrino, por enseñarme a amar incondicionalmente.

A mis tíos, Paty y Juan por demostrarme que la distancia no es un impedimento para contar siempre con ellos.

A mis amigos, por hacer divertido este camino y estar siempre a mi lado.

A mi director y lectores, gracias por acompañarme con conocimientos durante este trayecto.

A mis compañeros y maestros, por dejarme aprendizajes académicos y personales.

A sala de preparaciones y Karina Simbaña por siempre estar pendiente de las necesidades de los estudiantes y acompañarnos con enseñanzas.

Gracias a todos los mencionados por ser parte de esto.

LISTA DE ABREVIACIONES

UV-Vis: Espectroscopía ultravioleta visible

FT-IR: Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Formulas Químicas

CH₃COOH: Ácido acético

NaCl: Cloruro de sodio

NaOH: Hidróxido de sodio

NaClO: Hipoclorito de sodio

C₃H₈O₃: Glicerina

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	10
ABSTRACT	11
1 INTRODUCCIÓN	12
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
1.2 JUSTIFICACIÓN	12
2. MARCO TEÓRICO	13
2.1 BIOPELÍCULA	13
2.2 PESCADO	13
2.2.1 CORVINA (ARGYROMUS REGIUS).....	14
2.3 COLÁGENO	14
2.3.1 EXTRACCIÓN	14
2.3.2 ESTRUCTURA QUÍMICA.....	15
2.3.3 USOS Y APLICACIONES.....	15
2.4 HIDROLISIS	16
2.4.1 TIPOS DE HIDRÓLISIS	16
2.5 TÉCNICAS ANALÍTICAS DE IDENTIFICACIÓN	17
2.5.1. PRUEBA DE BIURET	17
2.5.2 UV-VIS	17
2.5.3 FT-IR.....	18
2.5.4 PRUEBAS SENSORIALES.....	18
2.5.4 PRUEBAS FISICOQUÍMICAS	19
3 OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS	19
3.1 GENERAL	19
3.2 ESPECÍFICOS.....	19
4 MATERIALES Y MÉTODOS	20
4.1 DIAGRAMAS DE FLUJO DE LOS PROCEDIMIENTOS	20
4.2 METODOLOGÍA.....	21
4.2.1 MATERIALES	21
4.2.2 MATERIA PRIMA	21
4.2.3 EXTRACCIÓN DEL COLÁGENO.....	21

4.2.3.1 MUESTRA DE PIEL Y ESCAMAS FRESCAS	21
4.2.3.2 MUESTRA DE PIEL Y ESCAMAS DESHIDRATADAS	22
4.2.4 CARACTERIZACIÓN DEL COLÁGENO	22
4.2.4.1 PRUEBA DE BIURET	22
4.2.4.2 UV-VIS	22
4.2.4.3 FT-IR.....	23
4.2.4.4 PRUEBAS SENSORIALES.....	23
4.2.5 GELATINA DE COLÁGENO	23
4.2.6 ELABORACIÓN DE LA BIOPELÍCULA.....	23
4.2.7 CARACTERIZACIÓN DE LA PELÍCULA.....	23
4.2.7.1 MEDICIÓN DEL pH.....	23
4.2.7.2 MEDICIÓN DE EXTENSIBILIDAD	23
4.2.7.3 PORCENTAJE DE HUMEDAD	23
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
5.1 CONDICIONES DE EXTRACCIÓN	24
5.2 PORCENTAJE DE PÉRDIDA DE PESO	25
5.3 PRUEBA DE BIURET	25
5.4 ANÁLISIS SENSORIAL DEL COLÁGENO EXTRAÍDO	26
5.5 PRUEBA DE SOLUBILIDAD	26
5.6 RESULTADOS DEL UV-VIS	28
5.6.1 CALCULOS DE CONCENTRACIÓN.....	26
5.7 RESULTADOS DE FT-IR.....	31
5.8 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICA, FÍSICOQUÍMICAS DE LA BIOPELÍCULA DE COLÁGENO	37
5.9 PORCENTAJE DE HUMEDAD.....	40
6 CONCLUSIONES	44
7 REFERENCIAS	46
ANEXOS	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estructura colágeno.....	16
Figura 2. Diagrama general del procedimiento que se utilizó para la extracción de colágeno tipo I.	22
Figura 3. Diagrama del procedimiento utilizado para la elaboración de las biopelículas.	22
Figura 4. Colágeno extraído de la muestra 1 de piel y escamas sin deshidratar.....	31
Figura 5. Colágeno extraído de la muestra 2 de piel y escamas sin deshidratar.....	31
Figura 6. Colágeno extraído de la muestra 3 de piel y escamas sin deshidratar.....	31
Figura 7. Colágeno extraído de la muestra 4 de piel y escamas sin deshidratar.....	32
Figura 8. Colágeno extraído de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas.	32
Figura 9. Colágeno extraído de la muestra 2 de piel y escamas deshidratadas.	33
Figura 10. Colágeno extraído de la muestra 3 de piel y escamas deshidratadas.	33
Figura 11. Colágeno extraído de la muestra 4 de piel y escamas deshidratadas.	33
Figura 12. Determinación de la longitud de onda para análisis de colágeno mediante UV-Vis.	35
Figura 13. Curva de calibración de la absorbancia vs concentración del estándar hidrolizado de colágeno.....	36
Figura 14. Espectro IR del estándar comercial del colágeno. Utilizado como referencia para las muestras obtenidas.	41
Figura 15. Espectro IR de la MUESTRA 1 de piel y escamas deshidratadas.	42
Figura 16. Espectro IR de la MUESTRA 2 de piel y escamas deshidratadas.	43
Figura 17. Espectro IR de la MUESTRA 3 de piel y escamas deshidratadas.	43
Figura 18. Espectro IR de la MUESTRA 4 de piel y escamas deshidratadas.	44
Figura 19. Espectro IR de la MUESTRA 1 de piel y escamas sin deshidratar.....	45
Figura 20. Espectro IR de la MUESTRA 3 de piel y escamas sin deshidratar.....	45
Figura 21: Espectro IR de la MUESTRA 4 de piel y escamas sin deshidratar.....	46
Figura 22. Espectros del colágeno obtenidos de las muestras junto con el estándar.	47
Figura 23: Biopelícula del estándar.....	47
Figura 24: Película de la muestra 1.....	48
Figura 25: Película de la muestra 2.....	48
Figura 26: Película de la muestra 3.....	49
Figura 27: Película de la muestra 4.....	49
Figura 28: Película de la muestra 1 deshidratada.....	49
Figura 29: Película de la muestra 2 deshidratada.....	49
Figura 30: Película de la muestra 3 deshidratada.....	50
Figura 31: Película de la muestra 4 deshidratada.....	50

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones a las que se sometieron las diferentes muestras de piel y escamas sin deshidratar.....	28
Tabla 2. Condiciones a las que se sometieron las diferentes muestras de piel y escamas deshidratadas.	28
Tabla 3. Porcentaje de pérdida de peso que sufrieron las muestras de piel y escamas NO deshidratadas durante el tratamiento para la obtención de colágeno.....	29
Tabla 4. Porcentaje de pérdida de peso que sufrieron las muestras de piel y escamas deshidratadas durante el tratamiento para la obtención de colágeno.	29
Tabla 5. Resultado de las pruebas de Biuret para todas las muestras.....	30
Tabla 6. Resultado de solubilidad en agua para todas las muestras.	34
Tabla 7. Absorbancias obtenidas del estándar de colágeno hidrolizado.....	35
Tabla 8. Resultados de absorbancia obtenidos de las muestras de piel y escamas sin deshidratar.....	36
Tabla 9. Cálculos de la concentración de colágeno a partir de la curva de calibración obtenida del estándar para muestras de piel y escamas sin deshidratar.....	37
Tabla 10. Resultados de absorbancia obtenidos de las muestras de piel y escamas deshidratadas	37
Tabla 11. Cálculos de la concentración de colágeno a partir de la curva de calibración obtenida del estándar para muestras de piel y escamas deshidratadas	38
Tabla 12. Grupos funcionales presentes en el colágeno tipo I.....	47
Tabla 13. Características organolépticas, fisicoquímicas del estándar de colágeno hidrolizado.....	47
Tabla 14. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas no deshidratadas	48
Tabla 15. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 2 de piel y escamas no deshidratadas	48
Tabla 16. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 3 de piel y escamas no deshidratadas	48
Tabla 17. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas no deshidratadas	49
Tabla 18. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas	49
Tabla 19. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas	49
Tabla 20. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas	50
Tabla 21. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas	50

LISTA DE ANEXOS

Anexo 2: Reducción del área de contacto de piel y escamas frescas.	59
Anexo 3: Equipo UV-Vis utilizado.....	59
Anexo 4: Fase de lavado.....	59
Anexo 5: Cristales de colágeno.	59
Anexo 6: Biopelícula de gelatina.....	60
Anexo 7: Filetes de pescado y escamas en proceso de deshidratación.	60
Anexo 8: Piel de pescado deshidratadas.	60
Anexo 9: Prueba de Biuret realizada en diferentes concentraciones.....	60

RESUMEN

De los residuos (escamas y piel) de corvina, se extrajo colágeno, proteína que fue aislada mediante hidrólisis básica y posterior solubilización ácida. Con el objetivo de utilizar el colágeno extraído de la piel y escamas de corvina (*Argyrosomus Regius*) para la elaboración de revestimientos para uso comestible.

La identificación de la proteína se realizó por técnicas espectrofotométricas de infrarrojo IR, UV-Vis y pruebas cualitativas. De esta manera se confirmó que el colágeno extraído es de tipo I.

Con el colágeno extraído se prepararon biopelículas que podría usarse como revestimiento de alimentos. Las biopelículas mencionadas se sometieron a pruebas fisicoquímicas y sensoriales, la mejor biopelícula fue la formada a partir de la MUESTRA 1 de piel y escamas no deshidratadas.

Se concluye que el colágeno se puede aislar mediante hidrólisis básica y solubilización ácida, sin embargo, la concentración de los reactivos y el pretratamiento de la muestra influencia en la concentración del colágeno obtenido. Además, se evidenció que el colágeno tratado con glicerina, ácido acético y almidón de yuca como espesante forma revestimientos de uso comestible.

Palabras clave: Biopelícula, colágeno, corvina, escamas, hidrólisis, identificación, piel.

ABSTRACT

Collagen was extracted from the waste (scales and skin) of sea bass, protein that was isolated by basic hydrolysis and subsequent acid solubilization. The objective was to use the collagen extracted from the skin and scales of sea bass (*Argyrosomus Regius*) for the elaboration of coatings for edible use.

The identification of the protein was carried out by spectrophotometric techniques of infrared IR, UV-Vis and qualitative tests. In this way it was confirmed that the extracted collagen is type I collagen.

The extracted collagen was used to prepare biofilms that could be used as food coatings. The mentioned biofilms were subjected to physicochemical and sensory tests, the best biofilm was the one formed from SAMPLE 1 of non dehydrated skin and scales.

It is concluded that collagen can be isolated by basic hydrolysis and acid solubilization; however, the concentration of the reagents and the pretreatment of the sample influence the concentration of the collagen obtained. In addition, it was evidenced that the collagen treated with glycerin, acetic acid and cassava starch as thickener forms coatings of edible use.

Keywords: Biofilm, collagen, flakes, hydrolysis, identification, sea bass, skin.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La venta de pescado fresco entero o por libras en los mercados municipales del Ecuador genera residuos sólidos orgánicos debido al proceso de evisceración del pescado (*Arteaga et al., 2022*). El Ecuador no está aprovechando los desperdicios generados en la venta de pescado ya sean: piel, vísceras y esqueleto, los mismos que están siendo empleados en la elaboración de harina, o simplemente exportados al mercado europeo y japonés. Esto también puede presentarse como un gran problema ya que se convierten en desechos sólidos al generar contaminación (*Almeida., 2007*).

Para dar un uso a algo que en Ecuador se considera desecho, se decidió utilizar la piel y escamas de pescado como materia prima para la obtención de colágeno.

1.2 JUSTIFICACIÓN

El proyecto nace de la necesidad de dar un uso a la piel y escamas de pescado, ya que dichas partes del pescado se consideran inservibles puesto que no tiene ningún tratamiento posterior, se convierte en desechos.

Estos desechos se pueden considerar materia prima para la obtención de colágeno, considerando así generar un valor agregado a la cadena productiva pesquera.

La materia prima utilizada fue gratuita ya que se recolectó en el mercado de Sangolquí (Quito, Ecuador). Para los procesos de lavados se emplea agua, para abaratar el costo del proyecto.

También, se consideró que el colágeno tiene varias áreas de aplicación de esta manera se logra un aumento en el desarrollo de nuevas industrias como la farmacéutica, alimentos y productos de belleza. En este caso se enfocará en la generación de un recubrimiento que se puede utilizar en frutas para su preservación.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 BIOPELÍCULAS

Los envases de plástico o películas sintéticas han sido ampliamente utilizados, debido a sus buenas propiedades mecánicas y efectividad como barrera al oxígeno y al agua (*Gómez-Estaca et al., 2009, Gómez-Guillén et al., 2009*). Sin embargo, la mayoría de las películas sintéticas tienen una base petroquímica y no son biodegradables, lo que genera contaminación ambiental y graves problemas ecológicos (*Tharanathan, 2003*). Por lo tanto, la película comestible de polímero natural se ha convertido en una alternativa ecológicamente importante a la película de polímero sintético de uso común (*Piotrowska et al., 2008*). Las películas comestibles pueden mejorar la calidad de los alimentos al actuar como barreras contra la humedad, el gas, el aroma y los lípidos, brindando protección a un producto alimenticio después de que se abre el paquete primario. Además, estas películas son biodegradables e incluso se pueden comer con alimentos, lo que reducirá la contaminación de las tradicionales películas plásticas no biodegradables (*Kim y Ustunol, 2001*). Las películas comestibles se pueden hacer a partir de polímeros naturales que incluyen proteínas, polisacáridos, lípidos o la combinación de estos componentes (*Tharanathan, 2003*). Las películas basadas en proteínas generalmente exhiben una pobre propiedad de barrera contra el agua. Sin embargo, las películas compuestas por lípidos son más resistentes a la humedad (*Gontard et al., 1994*).

2.2 PESCADO

La gelatina es un popular derivado del colágeno que se utiliza principalmente en productos alimenticios, farmacéuticos, fotográficos y productos industriales (*Haug, I. J., & Draget, K. I., 2009*). En los alimentos, la gelatina proporciona una función de fusión en la boca y para lograr una propiedad de gel termo-reversible. Su claridad, sabor suave, características emulsionantes, estabilidad, propiedades de textura y capacidad para ser aplicada en un amplio rango de pH, la hacen adecuada para ser utilizada en confitería y productos lácteos. Además, se recomienda su uso como alimento dietético, reductor de sal, agente floculante, enriquecimiento proteico y adhesivo. En la industria farmacéutica la gelatina se utiliza generalmente en cápsulas, comprimidos, como esponja hemostática y sustitutos del plasma sanguíneo. Además de ser usada en supositorios y encapsulación de vitaminas.

La gelatina obtenida por degradación parcial del colágeno ha ganado más atención como un nuevo material para películas comestibles (*Jongjareonrak et al., 2006, Gómez-Guillén et al., 2009*).

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es presentar el potencial uso de piel y escamas de pescado para la obtención de gelatinas por diferentes metodologías para mejorar el rendimiento de las gelatinas de pescado.

2.2.1 CORVINA (*ARGYROSOMUS REGIUS*)

El gran tamaño de este tipo de corvina proporciona una importante fuente de proteínas, por lo mismo representa un recurso destacado (*Politis y León, 2010*).

Las espinas, pieles y escamas contienen grandes cantidades de colágeno, que son de gran interés para la industria, ya que esta proteína y sus hidrolizados tienen características deseables para diversas aplicaciones, tanto en el campo de la alimentación, como en el campo de la medicina y cosmética (*Mosquera, 2014*).

2.3 COLÁGENO

El colágeno es una de las proteínas más abundantes en el reino animal, comprende un haz dextrógiro de tres hélices paralelas (*Shoulders y Raines., 2009*). Tradicionalmente, las fuentes primarias de colágeno se limitaban a los animales terrestres, como los bovinos y los cerdos. Pero en los últimos años, las reacciones alérgicas y el brote de encefalopatía espongiiforme bovina, encefalopatía espongiiforme transmisible, fiebre aftosa, tembladera ovina y caprina y otras zoonosis reducen su uso para la extracción de colágeno. Por lo tanto, el uso frecuente de colágeno y sus productos derivados exige fuentes de colágeno nuevas y seguras (*Zhang, et al., 2007*). Una de estas alternativas es el colágeno extraído de la piel, huesos, aletas y escamas de pescado que se utiliza como agente gelificante, estabilizante, espumante y emulsionante en alimentos. De manera similar, por la insolubilidad, biodegradabilidad y capacidad de formación de fibrillas del colágeno permiten su uso en material de envasado de alimentos activos (*Bhuimbar et al., 2019*).

2.3.1 EXTRACCIÓN DEL COLÁGENO

La extracción de colágeno suele implicar el aislamiento y la purificación de la proteína a partir de tejidos de origen animal, como la piel, los huesos, los tendones o las escamas (*García, 2017*).

Es importante tener en cuenta que el protocolo de extracción específico puede

variar en función del tipo de colágeno deseado, el tejido de origen y la aplicación prevista. Diferentes investigadores o industrias pueden tener sus propias modificaciones u optimizaciones del proceso de extracción en función de sus requisitos específicos.

2.3.2 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL COLÁGENO

El colágeno es una proteína fibrosa que constituye el principal componente de tejidos conectivos como piel, tendones, ligamentos y huesos. Proporciona fuerza, elasticidad y estructura a estos tejidos. La estructura del colágeno es bastante singular y consta varias unidades repetitivas (Okuyama, 2008).



Figura 1: Estructura colágeno.

El colágeno es una proteína con tres cadenas polipeptídicas. Cada cadena tiene 1000 aminoácidos y contiene al menos un tramo de la secuencia de aminoácidos repetitiva Gly-XY, donde X e Y pueden ser cualquier aminoácido, pero normalmente son prolina e hidroxiprolina, respectivamente (Patiño, et al., 2002). En la Fig. 1 se muestra la triple hélice del colágeno con su respectiva unidad repetitiva de tres aminoácidos.

2.3.3 USOS Y APLICACIONES DEL COLÁGENO

El colágeno es dúctil y se utiliza en diferentes campos, como la industria textil y las películas, los cosméticos, la industria biomédica y farmacéutica, y en la alimentación (Ratnasari et al., 2013; Gaidau et al.; Boscata y Crudu, 2013).

Una parte considerable del colágeno se consume en la elaboración de gelatinas alimentarias que tienen una serie de propiedades funcionales como gel y espuma, agente espesante, emulsionante, estabilizante, coloide protector (Schrieber y Gareis, 2007).

Además del aspecto alimentario, el colágeno se ha utilizado ampliamente en aplicaciones cosméticas. El colágeno hidrolizado se incorpora en un producto regenerador de la piel diseñado para contrarrestar la sequedad de la piel y prevenir el daño de la piel (Li, G. Y., Fukunaga, S., Takenouchi, K., & Nakamura, F., 2005). Además, se ha informado que el hidrolizado de colágeno es beneficioso para la salud de las articulaciones y los huesos (Moskowitz, R. W., 2000).

2.4 HIDRÓLISIS

La hidrólisis es una reacción química en la que un compuesto se rompe o descompone por la adición de moléculas de agua. El término "hidrólisis" procede de las palabras griegas "hydro" (que significa agua) y "lysis" (que significa aflojar o romper) (Olivero, et al., 2001).

En las reacciones de hidrólisis, una molécula de agua se divide en iones de hidrógeno (H^+) y de hidróxido (OH^-) (Villa Sánchez., 2014). Estos iones pueden interactuar con los enlaces químicos del compuesto que se hidroliza, provocando la descomposición del compuesto en sus partes constituyentes. La hidrólisis puede producirse en varios tipos de compuestos, como sales, ácidos, bases y moléculas orgánicas.

2.4.1 TIPOS DE HIDRÓLISIS

Las reacciones de hidrólisis son esenciales en diversos procesos biológicos, industriales y químicos. Desempeñan un papel crucial en la digestión, la descomposición de moléculas complejas para la liberación de energía y la síntesis y degradación de biomoléculas en las células (Gurung, et al., 2013). Pueden ser de varios tipos:

1. Hidrólisis de sales: Cuando una sal, como el cloruro sódico ($NaCl$), se disuelve en agua, sufre hidrólisis. Las moléculas de agua rompen los enlaces iónicos entre los iones sodio y cloruro, dando lugar a la formación de hidróxido de sodio ($NaOH$) y ácido clorhídrico (HCl).

2. Hidrólisis ácida: Algunos compuestos pueden descomponerse reaccionando con agua en presencia de un ácido. Por ejemplo, un éster puede sufrir hidrólisis ácida para producir un alcohol y un ácido carboxílico.

3. Hidrólisis básica: Ciertos compuestos pueden hidrolizarse en presencia de una base. Un ejemplo común es la hidrólisis de grasas o aceites (triglicéridos) en presencia de una base fuerte, como el hidróxido de sodio. Esta reacción, conocida como saponificación, da lugar a la formación de moléculas de glicerol y jabón.

4. Hidrólisis enzimática: Las reacciones de hidrólisis también se producen en los sistemas biológicos a través de la acción de las enzimas. Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas específicas. Por ejemplo, las enzimas llamadas lipasas catalizan la hidrólisis de las grasas en ácidos grasos y glicerol.

2.5 TÉCNICAS ANALÍTICAS DE IDENTIFICACIÓN

Existen varias técnicas de identificación analítica utilizadas habitualmente

para caracterizar e identificar el colágeno. Estas técnicas proporcionan información valiosa sobre las propiedades estructurales y químicas de las muestras de colágeno (*Bozec y Odlyha., 2011*).

Estas técnicas analíticas se utilizan a menudo en combinación para obtener un conocimiento exhaustivo de las muestras de colágeno, incluida su estructura, composición, estabilidad y modificaciones. La selección de las técnicas depende de los objetivos analíticos o de investigación específicos y de la instrumentación y los conocimientos disponibles (*Ma, et al., 2007*).

2.5.1 PRUEBA DE BIURET

La prueba de Biuret es una prueba química utilizada para detectar la presencia de proteínas. Se basa en la reacción entre las proteínas y los iones de cobre (II) en una solución alcalina, lo que da lugar a la formación de un complejo de color violeta (*Pinckney., 1961*).

2.5.2 UV-VIS

La espectroscopia ultravioleta visible puede utilizarse para medir la absorbancia de muestras de colágeno en longitudes de onda específicas de interés (*Wu, et al., 2019*). Estas mediciones pueden utilizarse para diversos fines, tales como:

1. Análisis cuantitativo: La espectroscopia UV-Vis puede emplearse para determinar la concentración de colágeno en una muestra correlacionando la absorbancia con una curva de calibración estándar a una longitud de onda de 190-210nm. (*Nunes, et al., 2015*).

2. Caracterización estructural: Los cambios en el espectro de absorción UV-Vis del colágeno pueden proporcionar información sobre modificaciones estructurales o desnaturalización de la proteína. Las alteraciones en el espectro pueden indicar cambios en el entorno de los aminoácidos aromáticos o alteraciones en la estructura de triple hélice del colágeno (*Li, et al., 2022*).

Cabe señalar que la espectroscopia UV-Vis por sí sola puede no proporcionar información completa sobre las propiedades estructurales y funcionales del colágeno. A menudo se utilizan conjuntamente otras técnicas complementarias, como la espectroscopia de dicroísmo circular (CD), la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) o la difracción de rayos X, para obtener una caracterización más completa de las características estructurales del colágeno.

4.5.3 FT-IR

La espectroscopia FT-IR es una técnica de uso común para el análisis del colágeno. Proporciona información valiosa sobre la estructura molecular y la composición del colágeno midiendo la absorción y la interacción de la radiación infrarroja con la muestra de colágeno (*Petibois, et al., 2006*).

Cuando el colágeno se somete a espectroscopia FT-IR, se observan varias bandas de absorción características en la región infrarroja, que pueden atribuirse a diferentes grupos funcionales presentes en la molécula de colágeno.

El espectro FT-IR del colágeno puede analizarse y compararse con espectros de referencia para determinar la estructura secundaria, identificar modificaciones o desnaturalización y evaluar la integridad general de las muestras de colágeno. Además, la espectroscopia FT-IR puede utilizarse para estudiar el colágeno en diversas formas, como películas, geles, andamios o en combinación con otros componentes en materiales compuestos (*Kyriakidou, et al., 2016*).

2.5.4 PRUEBAS SENSORIALES

Las pruebas sensoriales del colágeno suelen consistir en evaluar su textura, sabor y olor. Estas son algunas de las pruebas sensoriales más comunes que se realizan con el colágeno:

1. Análisis de la textura: El análisis de la textura mide las propiedades físicas del colágeno, incluyendo su firmeza, elasticidad, cohesión y masticabilidad. Esta prueba se realiza a menudo utilizando un analizador de textura, que aplica fuerzas controladas a la muestra de colágeno y proporciona mediciones objetivas (*Tang, et al., 2014*).

2. Evaluación del sabor: En las pruebas de sabor participa un panel de evaluadores sensoriales formados que evalúan el sabor de los productos a base de colágeno. Evalúan atributos como dulzor, amargor, umami y calidad general del sabor. Los evaluadores pueden utilizar un protocolo de cata estandarizado y hojas de puntuación para proporcionar resultados coherentes y comparables (*Yamauchi, et al., 2014*).

3. Evaluación del olor: Las pruebas de olor se centran en evaluar el aroma u olor de los productos de colágeno. Los panelistas olfatean las muestras y describen la intensidad, calidad y cualquier olor desagradable presente. Los términos más comunes

utilizados para describir el aroma del colágeno incluyen neutro, carnosos y ligeramente dulce.

Estas pruebas sensoriales ayudan a los fabricantes e investigadores a comprender los atributos sensoriales del colágeno y sus productos, lo que les permite optimizar las fórmulas y mejorar la experiencia sensorial general de los consumidores (*Raz, et al., 2008*).

2.5.5 PRUEBAS FISICOQUÍMICAS

Las pruebas fisicoquímicas del colágeno consisten en analizar sus propiedades químicas y físicas. Estas pruebas proporcionan información valiosa sobre la composición, estructura, pureza y calidad del colágeno, son esenciales para caracterizar el colágeno, garantizar su calidad y comprender su comportamiento en diversas aplicaciones, como alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos y materiales biomédicos (*Chang, et al., 2012*).

3. OBJETIVOS GENERAL Y ESPECÍFICOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Elaborar biopelículas a partir de la gelatina obtenida de la piel y escamas de corvina (*Argyrosomus Regius*) para uso como revestimiento comestible.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- * Obtener revestimientos biodegradables de gelatina de colágeno por polimerización.
- * Analizar las características del colágeno obtenido a partir de la piel y escamas de pescado mediante pruebas cualitativas y cuantitativas como son; prueba de Biuret, UV-Vis y FT-IR.
- * Analizar las características de las biopelículas obtenidas mediante análisis fisicoquímicos y sensoriales.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 DIAGRAMAS DE FLUJO DE LOS PROCEDIMIENTOS

En la Figura 2 se describe el procedimiento general y las condiciones con las que se trabajaron para la extracción de colágeno tipo I, el que posteriormente se utilizó en la elaboración de biopelículas. Por otro lado, la Fig. 3 se detalla el procedimiento seguido para la elaboración de biopelículas.

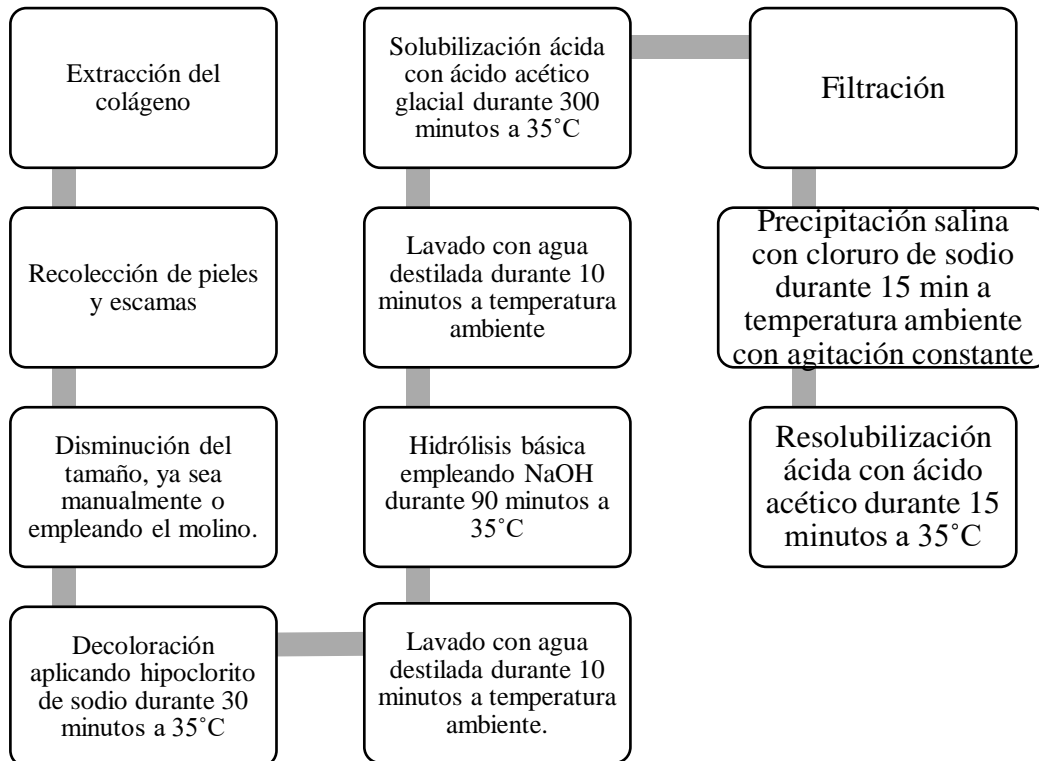


Figura 2. Diagrama general del procedimiento que se utilizó para la extracción de colágeno tipo I.

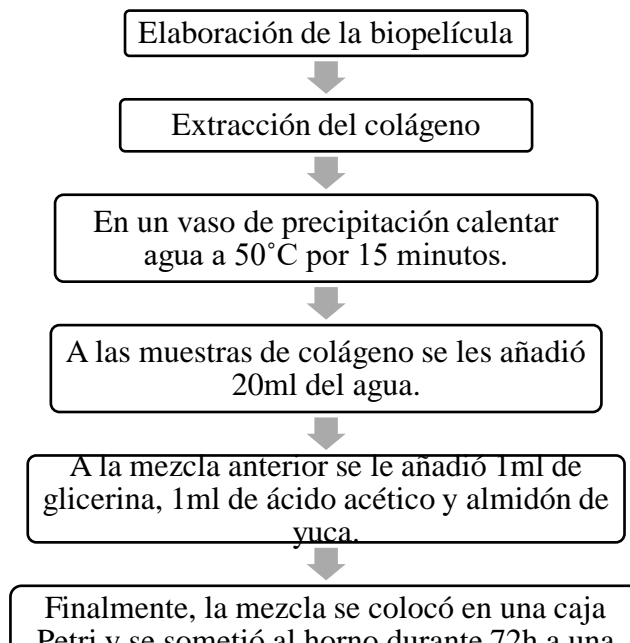


Figura 3. Diagrama del procedimiento utilizado para la elaboración de las biopelículas.

4.2 METODOLOGÍA

4.2.1 MATERIALES

Reactivos

Para la extracción del colágeno se utilizó hipoclorito de sodio, hidróxido de sodio 98% Fisher Scientific, ácido acético glacial 100% Merck S.A, cloruro de sodio 99.5% Fisher Scientific y agua destilada grado reactivo. Para la identificación de la proteína se empleó el reactivo de Biuret. Por otro lado, para la realización de las biopelículas se utilizaron glicerina Weir, solución de ácido acético 0.5 M y almidón de yuca comercial “El Artesanal”. Estas pruebas se realizaron en el Laboratorio de Alimentos de la PUCE.

Equipos

Para que la preparación de la muestra se utilizó un horno Indurama, para que la extracción del colágeno se realice bajo condiciones óptimas de temperatura y agitación se utilizó una plancha de calentamiento con agitación MTops MS300HS y un imán cilindrico 30x8cm Cowie. También se utilizó una balanza analítica Mettler Toledo para realizar las diferentes mediciones.

Por otro lado, para la caracterización del colágeno se utilizó el equipo UV-Vis Agilent Technologies Cary 60 y el FT-IR Spectrum Bx.

4.2.2 MATERIA PRIMA

La materia prima para la elaboración de biopelículas fueron pieles y escamas de pescado, para lo cual se realizó un acuerdo verbal con los comerciantes del mercado de Sangolquí.

4.2.3 EXTRACCIÓN DEL COLÁGENO

Para la obtención del colágeno se utilizaron dos tipos de muestras, piel y escamas frescas y piel y escamas deshidratadas por lo cual se adaptó de diferentes maneras la metodología propuesta por (Velarde., et al., 2015) para cada tipo de muestras utilizadas se realizó un diseño experimental que se describe en los puntos 4.2.3.1 y 4.2.3.2.

4.2.3.1 MUESTRA DE PIEL Y ESCAMAS FRESCAS

Se inició con la reducción de tamaño de la piel a un tamaño aproximado de 1cm utilizando una tijera de cocina. Posteriormente se realizó el procedimiento para la decoloración empleando hipoclorito de sodio (NaClO) en relación 1:10 p/v, se colocó en

un vaso de precipitación la piel junto con el hipoclorito de sodio (NaClO) en una plancha de calentamiento con agitador con un tiempo estimado de 10 minutos a una temperatura de 35 °C.

Continuando con la extracción se realizó lavados con agua destilada a la piel decolorada. A continuación, se realizó hidrólisis básica empleando hidróxido de sodio (NaOH) con un tiempo de 90 minutos a una temperatura de 30 °C en proporción 1:10 p/v.

Siguiendo con la metodología para comprobar el rendimiento se dividió la muestra de piel previamente decolorada e hidrolizada en cuatro vasos de precipitación de esta manera:

1. 25,0 gramos de piel y escamas
2. 15,0 gramos de piel y escamas
3. 8,5 gramos de piel y escamas
4. 10,0 gramos de piel y escamas

Prosiguiendo, se realizó una solubilización ácida empleando ácido acético (CH₃COOH) durante 300 minutos a una temperatura de 35 °C, la cantidad utilizada de ácido fue en proporción 1:10 p/v. Se filtró las muestras y se procedió a realizar una precipitación salina con hipoclorito de sodio (NaCl) durante 15 minutos a temperatura ambiente en agitación constante y se filtró.

Finalmente, se realizó una nueva solubilización ácida empleando ácido acético (CH₃COOH) durante 15 minutos a temperatura de 35 °C en proporción 1:10 p/v y se filtró.

4.2.3.2 MUESTRA DE PIEL Y ESCAMAS DESHIDRATADAS

Se inició con la deshidratación de la piel y escamas para lo cual se utilizó un horno durante 2 días a una temperatura de 45 °C. Una vez deshidratada la piel se procedió a moler. Posteriormente se realizó el procedimiento para la decoloración empleando hipoclorito de sodio (NaClO) en relación 1:10 p/v con un tiempo estimado de 10 minutos a una temperatura de 35 °C.

Continuando con la extracción se realizó lavados con agua destilada a la piel decolorada. Siguiendo con la metodología para comprobar el rendimiento se dividió la muestra en partes iguales en cinco vasos de precipitación.

A continuación, se realizó hidrólisis básica empleando hidróxido de sodio (NaOH) con un tiempo de 90 minutos a una temperatura de 30 °C en diferentes proporciones las cuales se detallan en la Tabla 2 para comprobar su rendimiento.

Prosiguiendo, se realizó una solubilización ácida empleando ácido acético (CH₃COOH) durante 300 minutos a una temperatura de 35 °C, la cantidad utilizada fue distinta para cada vaso de precipitación. Se filtró las muestras y se procedió a realizar una precipitación salina con cloruro de sodio (NaCl) durante 15 minutos a temperatura ambiente en agitación constante y se filtró.

Seguidamente, se realizó una nueva solubilización ácida empleando ácido acético (CH₃COOH) durante 15 minutos a temperatura de 35 °C en proporción 1:10 p/v y se filtró.

4.2.4 CARACTERIZACIÓN DEL COLÁGENO

El colágeno obtenido fue identificado y comparado con un patrón (colágeno hidrolizado) mediante el método de FTIR y UV-vis.

Además, se identificó la proteína mediante la prueba cualitativa de Biuret.

4.2.4.1 PRUEBA BIURET

Para la identificación por el método de Biuret, se colocó 1ml de la muestra, luego se añadió 3ml de la solución de NaOH al 20% y finalmente se añadió 3ml del reactivo de Biuret. El resultado de esta prueba se basa en la obtención de un color, en el caso de tener color azul o amarillo es resultado negativo indicando la presencia de aminoácidos. Mientras que el color violeta es resultado positivo indicando la presencia de proteínas.

4.2.4.2 UV-VIS

Para el análisis por el método de UV-Vis, se prepararon soluciones a partir del estándar de colágeno hidrolizado dichas soluciones fueron preparadas a partir de una solución madre para la cual se empleó 0.1g de colágeno en un balón de 100ml. Se obtuvo una curva de calibración la cual se utilizó para el cálculo de la concentración de colágeno que se encontró en las muestras obtenidas. El equipo utilizado fue Agilent Technologies Cary 60.

4.2.4.3 FT-IR

Las muestras obtenidas necesitaron previa preparación ya que al ser sólidas necesitan presentar homogeneidad para lo cual se utilizó un mortero de porcelana con

pistilo. Una vez homogenizada las muestras se analizaron directamente en un equipo de FT-IR y se realizó una comparación con el estándar y literatura. El equipo utilizado fue Spectrum Bx.

4.2.4.4 PRUEBAS SENSORIALES

Se realizaron prueba de sabor, olor, aspecto y color evidenciados por un panel de evaluadores conformados por familia y amigos.

4.2.5 GELATINA DE COLÁGENO

Para la preparación de gelatina de colágeno, en un vaso de precipitación se colocó agua y se calentó en una plancha de calentamiento marca “MTops MS300HS” a 50 °C durante 15 minutos. Posteriormente, se le añadió aproximadamente 20ml de agua caliente a cada una de las muestras tanto de piel y escamas no deshidratadas como de piel y escamas deshidratadas, se mezcló hasta disolución.

4.2.6 ELABORACIÓN DE LA BIOPELÍCULA

Para la elaboración de la biopelícula, la gelatina previamente preparada se llevó a la plancha de calentamiento hasta llevarla a estado líquido. Posteriormente, se colocó 20ml de la gelatina líquida de cada una de las muestras en cajas Petri, se le añadió 1ml de glicerina (C₃H₈O₃), 1ml de ácido acético (CH₃COOH) y una cuchara de almidón de yuca. Prosiguiendo se tomó el peso inicial en una balanza analítica, seguidamente se sometió las muestras a secado en un horno durante aproximadamente 2 días a una temperatura de 35 °C.

4.2.7 CARACTERIZACIÓN DE LA PELÍCULA

4.2.7.1 MEDICIÓN DEL pH

El pH se midió en las muestras solubles empleando tiras de pH, se escogió este método ya que presenta varias ventajas como son su facilidad de uso, su portabilidad, pueden ser desechables y, además, son más económicas.

4.2.7.2 MEDICIÓN DE EXTENSIBILIDAD

Una forma de evaluar la extensibilidad de la película de colágeno es estirándola manualmente (Kolel, et al., 2020). Se empezó cortando una pequeña muestra de la película de colágeno y sujétela suavemente entre los dedos por cada extremo. Se aplicó una fuerza gradual y controlada para estirar la película mientras observa su respuesta. Se observó cuánto se alarga antes de romperse. Y se tomó medidas con una regla.

4.2.7.3 PORCENTAJE DE HUMEDAD

En cuanto a la caracterización química, se cuantificó el porcentaje de humedad por el método de ensayo propuesto por (*Carter y Gregorich.,2007*). El porcentaje de humedad se calculó utilizando el peso inicial del procedimiento para la realización de la biopelícula y el peso final el cual se determinó una vez secada la biopelícula.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 CONDICIONES DE EXTRACCIÓN

Se realizaron distintas pruebas a diferentes concentraciones las cuales se detallan en la Tabla 1 para la extracción de colágeno en las muestras de piel y escamas sin deshidratar:

Tabla 1. Condiciones a las que se sometieron las diferentes muestras de piel y escamas sin deshidratar.

Muestra	Peso (g)	Hidrolisis básica (NaOH, g)	Solubilización ácida (CH ₃ COOH, ml)	Precipitación salina (NaCl, g)	Re-solubilización ácida (CH ₃ COOH, ml)
1	14,4	5,6 [1,4 M]	4,2 [0,7 M]	8 [1,4 M]	4,2 [0,7 M]
2	9,7	3,6 [0,9 M]	3 [0,5 M]	6 [1 M]	3 [0,5 M]
3	8	3,2 [0,8 M]	2,4 [0,4 M]	2 [0,3 M]	2,4 [0,4 M]
4	9,5	3,6 [0,9 M]	2,7 [0,4 M]	4 [0,7 M]	2,7 [0,4 M]

En la Tabla 1, se describe las condiciones de hidrolisis básica, precipitación salina y solubilización ácida a la que se sometieron las muestras denominadas como 1,2,3 y 4.

Se realizaron distintas pruebas con respecto a diferentes concentraciones de extracción en las muestras de piel y escamas deshidratadas:

Tabla 2. Condiciones a las que se sometieron las diferentes muestras de piel y escamas deshidratadas.

Muestra	Hidrolisis básica (NaOH, g)	Solubilización ácida (CH ₃ COOH, ml)	Precipitación salina (NaCl, g)	Re-solubilización ácida (CH ₃ COOH, ml)
1	0,5 [0,1 M]	2,5 [0,4 M]	1,2 [0,2 M]	2,5 [0,4 M]
2	0,8 [0,2 M]	5 [0,8 M]	2,4 [0,4 M]	5 [0,8 M]
3	1,5 [0,4 M]	7,5 [1,2 M]	3,6 [0,6 M]	7,5 [1,2 M]
4	2 [0,5 M]	10 [1,6 M]	4,8 [0,8 M]	10 [1,6 M]

En la Tabla 2, se describe las condiciones de hidrolisis básica, precipitación salina y solubilización ácida a la que se sometieron las muestras de piel y escamas deshidratadas denominadas como 1, 2, 3 y 4.

Los tratamientos constan de 5 fases; decoloración, hidrolisis básica, solubilización ácida, precipitación salina y re-solubilización ácida. La fase de decoloración es

importante debido a que elimina las células cromatóforas de las pieles color oscuro, la fase de hidrólisis básica es la más importante debido a que en esta se elimina las proteínas distintas al colágeno presentes en la piel y escamas del pescado mediante la ruptura de proteínas de los tejidos vivos. Por otro lado, el CH₃COOH se emplea como paso final en la extracción de colágeno solubilizando la proteína presente en la matriz de la piel y escamas. Finalmente, la fase de precipitación salina debido a las cargas iónicas que posee el sodio y el cloro permite la recuperación de colágeno solubilizado (Serrano Gaona., 2011).

El método utilizado fue el idóneo debido a que evita la descomposición de aminoácidos, carbohidratos y otros nutrientes que contiene la piel y escamas del pescado (Nam et al., 2008).

5.2 PORCENTAJE DE PÉRDIDA DE PESO

Tabla 3. Porcentaje de pérdida de peso que sufrieron las muestras de piel y escamas NO deshidratadas durante el tratamiento para la obtención de colágeno.

Muestras	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Porcentaje de pérdida de peso durante los pretratamientos (%)
1	14,4	1.151	92
2	8	0.261	96.74
3	9,7	0.422	95.65
4	9,5	0.695	92.68

En la Tabla 3, se realizaron los cálculos del porcentaje de pérdida de peso que sufrieron las muestras bajo las diferentes condiciones descritas en la Tabla 1. Dado como resultado que la MUESTRA 2 presentó el mayor porcentaje de pérdida de peso mientras que la MUESTRA 1 fue la que presentó el menor porcentaje de pérdida de peso.

Tabla 4. Porcentaje de pérdida de peso que sufrieron las muestras de piel y escamas deshidratadas durante el tratamiento para la obtención de colágeno.

Muestras	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Porcentaje de pérdida de peso durante los pretratamientos (%)
1	20	1.144	94.26
2	20	0.654	96.73
3	20	1.057	94.72
4	20	0.354	98.23

En la Tabla 4, se realizaron los cálculos del porcentaje de pérdida de peso que sufrieron las muestras bajo las diferentes condiciones descritas en la Tabla 2. Dado como resultado que la MUESTRA 4 presentó el mayor porcentaje de pérdida de peso mientras que la MUESTRA 1 fue la que presentó el menor porcentaje de pérdida de peso.

Las muestras que mayor pérdida de peso presentaron fue la MUESTRA 2 de la piel y escamas deshidratadas como la piel y la MUESTRA 4 de piel y escamas no deshidratadas con valores de 96.74% y 98.23%, respectivamente. Por otro lado, las muestras con menor pérdida de peso fueron la MUESTRA 1 tanto de piel y escamas no deshidratadas como de piel y escamas deshidratadas con valores de 92 y 94.26 %, respectivamente. El porcentaje de pérdida de peso puede ser un indicativo de la cantidad de proteínas no colágenas de la piel y escamas de pescado que se logró eliminar. Sin embargo, para producción a gran escala no es un método factible. Se debe resaltar que en la etapa que mayor pérdida de peso presenta es la hidrólisis básica debido a que elimina las proteínas distintas al colágeno presentes en la piel y escamas del pescado (Guerrero, 2019). Por lo que bajo este criterio la MUESTRA 1 es la que se considera como la mejor para los propósitos de formar biopelículas.

5.3 PRUEBA DE BIURET

Tabla 5. Resultado de las pruebas de Biuret para todas las muestras.

Prueba de Biuret	
Muestras de piel y escamas NO deshidratadas	
1	+
2	+
3	+
4	+
Muestras de piel y escamas deshidratadas	
1	+
2	+
3	+
4	+

En la Tabla 5, se muestran los resultados que se obtuvieron a partir de la prueba de Biuret; todas las muestras dieron como resultado positivo tornándose a una coloración violeta, así podemos llegar a la conclusión de que todas las muestras poseen proteína, lo que se le atribuye al contenido de colágeno.

5.4 ANÁLISIS SENSORIAL DEL COLÁGENO EXTRAÍDO



Figura 4. Colágeno extraído de la muestra 1 de piel y escamas sin deshidratar.

En la Fig.4, se puede observar el colágeno extraído de la MUESTRA 1 de piel y escamas sin deshidratar. Se realizó un análisis sensorial considerando los parámetros de color, aspecto y olor los cuales dieron como resultado cenizo blanquecino, sólido homogéneo y neutro, respectivamente.



Figura 5. Colágeno extraído de la muestra 2 de piel y escamas sin deshidratar.

En la Fig.5, se puede observar el colágeno extraído de la MUESTRA 2 de piel y escamas sin deshidratar. Se realizó un análisis sensorial considerando los parámetros de color, aspecto y olor los cuales dieron como resultado gris blanquecino, sólido heterogéneo y ligero a ácido acético, respectivamente.



Figura 6. Colágeno extraído de la muestra 3 de piel y escamas sin deshidratar.

En la Fig.6, se puede observar el colágeno extraído de la MUESTRA 3 de piel y escamas sin deshidratar. Se realizó un análisis sensorial considerando los parámetros de

color, aspecto y olor los cuales dieron como resultado plata blanquecino, sólido homogéneo y neutro, respectivamente.



Figura 7. Colágeno extraído de la muestra 4 de piel y escamas sin deshidratar.

En la Fig.7, se puede observar el colágeno extraído de la MUESTRA 4 de piel y escamas sin deshidratar. Se realizó un análisis sensorial considerando los parámetros de color, aspecto y olor los cuales dieron como resultado cenizo blanquecino, sólido heterogéneo y ligero a ácido acético, respectivamente.



Figura 8. Colágeno extraído de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas.

En la Fig.8, se puede observar el colágeno extraído de la MUESTRA 1 de piel y escamas deshidratadas. Se realizó un análisis sensorial considerando los parámetros de color, aspecto y olor los cuales dieron como resultado pardo, sólido homogéneo y neutro, respectivamente.



Figura 9. Colágeno extraído de la muestra 2 de piel y escamas deshidratadas.

En la Fig.9, se puede observar el colágeno extraído de la MUESTRA 2 de piel y escamas sin deshidratar. Se realizó un análisis sensorial considerando los parámetros de color, aspecto y olor los cuales dieron como resultado cenizo miel, sólido homogéneo y neutro, respectivamente.



Figura 10. Colágeno extraído de la muestra 3 de piel y escamas deshidratadas.

En la Fig.10, se puede observar el colágeno extraído de la MUESTRA 3 de piel y escamas sin deshidratar. Se realizó un análisis sensorial considerando los parámetros de color, aspecto y olor los cuales dieron como resultado cenizo grisáceo, sólido homogéneo y neutro, respectivamente.



Figura 11. Colágeno extraído de la muestra 4 de piel y escamas deshidratadas.

En la Fig.11, se puede observar el colágeno extraído de la MUESTRA 4 de piel y escamas sin deshidratar. Se realizó un análisis sensorial considerando los parámetros de color,

aspecto y olor los cuales dieron como resultado ocre, sólido homogéneo y neutro, respectivamente.

De acuerdo con (Chotphruethiping, et al., 2020), el colágeno cumple con ciertas características como son: tener un alto contenido de proteína, presentar resistencia y elasticidad, ser soluble en agua y poseer color blanco, olor inoloro y sabor insípido. Por lo tanto, podemos decir que las muestras con mejores características que se obtuvo fueron las MUESTRA 1 tanto de piel y escamas deshidratadas como no deshidratadas ya que como se describe el color es cercano al blanco, el olor es neutral y ambas muestras son homogéneas. Por otro lado, la MUESTRA 2 es la que presente las peores características descritas.

5.5 SOLUBILIDAD DEL COLÁGENO EXTRAÍDO

Tabla 6. Resultado de solubilidad en agua para todas las muestras.

Prueba de solubilidad en agua	
Muestras de piel y escamas NO deshidratadas	
1	+
2	+
3	+
4	+
Muestras de piel y escamas deshidratadas	
1	+
2	+
3	+
4	+

En la Tabla 6, se muestran los resultados que se obtuvieron a partir de la prueba de solubilidad en agua; todas las muestras dieron como resultado positivo, es decir todas las muestras son solubles en agua. El colágeno es insoluble en agua en condiciones normales, sin embargo, al romper las fibras de colágeno y exponer sus componentes individuales mediante solubilización ácida permite su disolución (Sionkowska, et al., 2017).

5.6 RESULTADOS DEL UV-VIS;

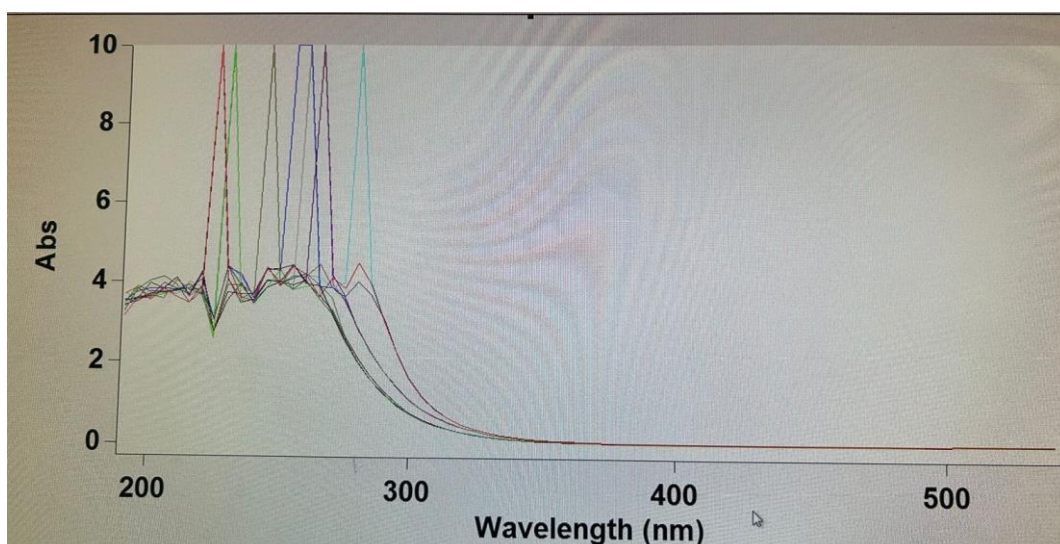


Figura 12. Determinación de la longitud de onda para análisis de colágeno mediante UV-Vis.

Para la determinación de la longitud de onda a la cual se realizó el análisis para las muestras obtenidas, se utilizó un estándar de colágeno hidrolizado comercial marca “Colactive protein” al cual se le sometió a un barrido entre 190 a 540nm. Se obtuvo como resultado que la longitud de onda óptima para este análisis fue entre los 190 a 200nm debido a que el analito de interés presentó la mayor absorbancia. Además, se consideró que en la literatura nos describe que la onda característica del colágeno es entre 190 y 240 nm (Lin, et al., 2006).

Tabla 7. Absorbancias obtenidas del estándar de colágeno hidrolizado.

Concentración (mg/L)	Absorbancia promedio (190nm)
20.0	3.3674
40.0	3.4428
60.0	3.4552
80.0	3.5144
100.0	3.5227

La Tabla 7, muestra las absorbancias leídas a diferentes concentraciones del estándar en la longitud de onda 190nm característica del colágeno, a partir de estos datos podemos decir que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración ya que la absorbancia aumenta mientras incrementa la concentración.

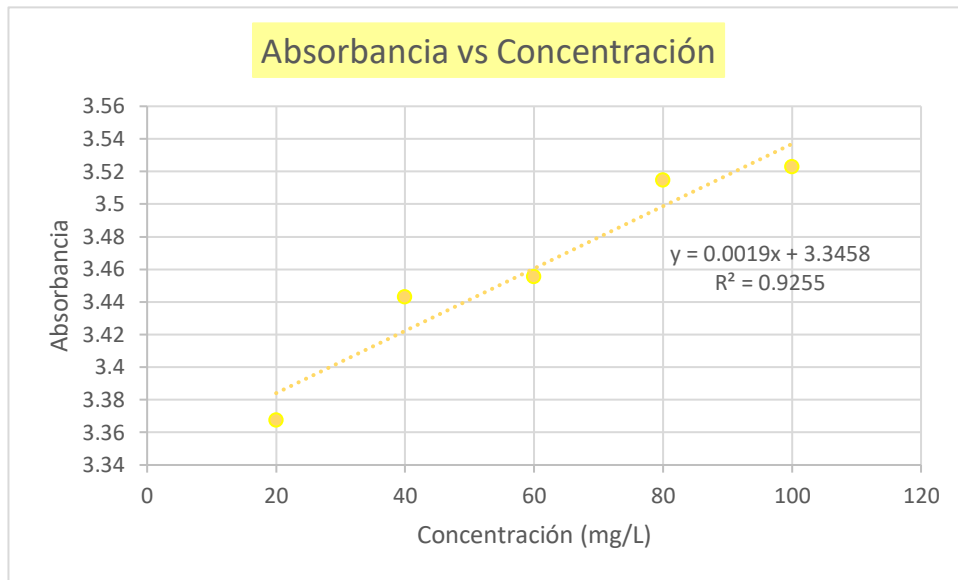


Figura 13. Curva de calibración de la absorbancia vs concentración del estándar hidrolizado de colágeno.

La ecuación de la recta obtenida de la curva de calibración se utilizó para el cálculo de las concentraciones de colágeno obtenidas en las muestras. En este caso “y” son los valores de absorbancia medidos para cada muestra y “x” va a ser la concentración de colágeno, se sustituyó los valores conocidos y se obtuvo x que es nuestra variable independiente.

Tabla 8. Resultados de absorbancia obtenidos de las muestras de piel y escamas sin deshidratar.

Absorbancia leída a 190nm				
Muestras	1	2	3	Absorbancia promedio
1	3.4587	3.5615	3.5844	3.5348
2	3.4009	3.5045	3.4253	3.4436
3	3.4044	3.6992	3.4956	3.5330
4	3.5218	3.5075	3.5601	3.5298
		Desviación	Estándar	0.0445

En la Tabla 8, se muestran las absorbancias y la absorbancia promedio que se obtuvieron para las muestras de piel y escamas sin deshidratar. Dando como resultado que la muestra con mayor absorbancia fue la MUESTRA 1 con una absorbancia promedio de 3.5348, mientras que la que menor absorbancia presenta fue la MUESTRA 2 con una absorbancia promedio de 3.4436.

Tabla 9. Cálculos de la concentración de colágeno a partir de la curva de calibración obtenida del estándar para muestras de piel y escamas sin deshidratar

Muestras	Concentración obtenida a partir de la ecuación de la recta (mg/L)
1	99.47
2	51.47
3	98.52
4	96.84

En la Tabla 9, se observan los cálculos de concentración de colágeno que se encontraron en las muestras, los cálculos se realizaron a partir de la curva de calibración que se muestra en la Figura 3. Nos dieron como resultado que la MUESTRA 1 presentó la mayor concentración de colágeno con un valor de 99.47 mg/L esto se puede deber a que fue la muestra que poseía el mayor peso inicial. Mientras que la muestra de menor concentración fue la MUESTRA 2 con un valor de 51.47 esto se le atribuye a que tuvo el menor peso inicial y menor concentración de las sustancias empleadas en su extracción.

Tabla 10. Resultados de absorbancia obtenidos de las muestras de piel y escamas deshidratadas

Muestras	Absorbancia leída a 190nm			Absorbancia promedio
	1	2	3	
1	3.5107	3.4210	3.4489	3.4602
2	3.4109	3.4936	3.5330	3.4792
3	3.4354	3.4878	3.5338	3.4857
4	3.4653	3.5390	3.5178	3.5074
		Desviación	estándar	0.0194

En la Tabla 10, se muestran las absorbancias y la absorbancia promedio que se obtuvieron para las muestras de piel y escamas sin deshidratar. Dando como resultado que la muestra con mayor absorbancia fue la MUESTRA 4 con una absorbancia promedio de 3.5074, mientras que la que menor absorbancia presenta es la MUESTRA 1 con una absorbancia promedio de 3.4602. Lo cual nos da un indicio de que al aumentar la concentración de los procedimientos tanto de hidrolisis básica, solubilidad ácida y precipitación salina aumentara la concentración de colágeno obtenido.

Tabla 11. Cálculos de la concentración de colágeno a partir de la curva de calibración obtenida del estándar para muestras de piel y escamas deshidratadas

Muestras	Concentración obtenida a partir de la ecuación de la recta (mg/L)
1	60.21
2	70.21
3	73.63
4	83.63

En la Tabla 11, se observan los cálculos de concentración de colágeno que se encontraron en las muestras, los cálculos se realizaron a partir de la ecuación de la recta que se obtuvo de la curva de calibración que se muestra en la Figura 3. Da como resultado que la MUESTRA 4 presentó la mayor concentración de colágeno con un valor de 83.63 mg/L esto informa de que al aumentar las concentraciones de las sustancias utilizadas en los pretratamientos mayor podría ser la concentración de colágeno obtenido. Por otro lado, la muestra con menor concentración de colágeno fue la MUESTRA 1.

Luego de obtener las diferentes muestras, se midieron la absorbancia en cada una y reemplazó estos valores en la ecuación de la recta que se obtuvo de la curva de calibración del estándar. Se obtuvieron las concentraciones aproximadas, las cuales se describen en las Tablas 9 y 11. De acuerdo con el análisis cuantitativo realizado mediante UV-Vis las condiciones que presentan mayor concentración de colágeno pertenecen a la MUESTRA 1 de piel y escamas no deshidratadas con un valor de 99.47 mg/L. De acuerdo con la Figura 13, se puede concluir que la concentración es directamente proporcional con la absorbancia promedio.

Las muestras que mayor absorbancia presentaron fueron; la MUESTRA 1 de piel y escamas no deshidratadas y la MUESTRA 4 de piel y escamas deshidratadas con absorbancias de 3.5348 y 3.5074, respectivamente. Mientras que las MUESTRAS 2 de piel y escamas no deshidratadas y la MUESTRA 1 de piel y escamas deshidratadas son las que menor absorbancia presentan con valores de 3.4436 y 3.4602, respectivamente.

Correspondientemente a los valores de absorbancia medidos las concentraciones son proporcionales a estos, es decir que las muestras con mayor concentración de colágeno fueron MUESTRA 1 de piel y escamas no deshidratadas y la MUESTRA 4 de piel y escamas deshidratadas con concentraciones de 99.47 y 83.63 mg/L, respetivamente. Por otro lado, las muestras con menor concentración de colágeno fueron la MUESTRA 2

de piel y escamas no deshidratadas y la MUESTRA 1 de piel y escamas no deshidratadas con concentraciones de 51.47 y 60.21, respectivamente.

5.6.1 CÁLCULOS DE CONCENTRACIÓN DE COLÁGENO PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS

$$y = 0.0019x + 3.3458$$

y; absorbancia promedio

x; concentración de colágeno

$$R^2 = 0.9255$$

Muestra de piel y escamas no deshidratadas:

Muestra 1

$$3.5348 = 0.0019x + 3.3458$$

$$\frac{3.5348 - 3.3458}{0.0019} = x$$

$$x = 99.47$$

Muestra 2

$$3.5348 = 0.0019x + 3.3458$$

$$\frac{3.4436 - 3.3458}{0.0019} = x$$

$$x = 51.47$$

Muestra 3

$$3.5348 = 0.0019x + 3.3458$$

$$\frac{3.5330 - 3.3458}{0.0019} = x$$

$$x = 98.52$$

Muestra 4

$$3.5348 = 0.0019x + 3.3458$$

$$\frac{3.5298 - 3.3458}{0.0019} = x$$

$$x = 96.84$$

Muestra de piel y escamas deshidratadas:

Muestra 1

$$3.5348 = 0.0019x + 3.3458$$

$$\frac{3.4602 - 3.3458}{0.0019} = x$$

$$x = 60.21$$

Muestra 2

$$3.5348 = 0.0019x + 3.3458$$

$$\frac{3.4792 - 3.3458}{0.0019} = x$$

$$x = 70.21$$

Muestra 3

$$3.5348 = 0.0019x + 3.3458$$

$$\frac{3.4857 - 3.3458}{0.0019} = x$$

$$x = 73.63$$

Muestra 4

$$3.5348 = 0.0019x + 3.3458$$

$$\frac{3.5074 - 3.3458}{0.0019} = x$$

$$x = 83.63$$

5.7 RESULTADOS FT-IR:

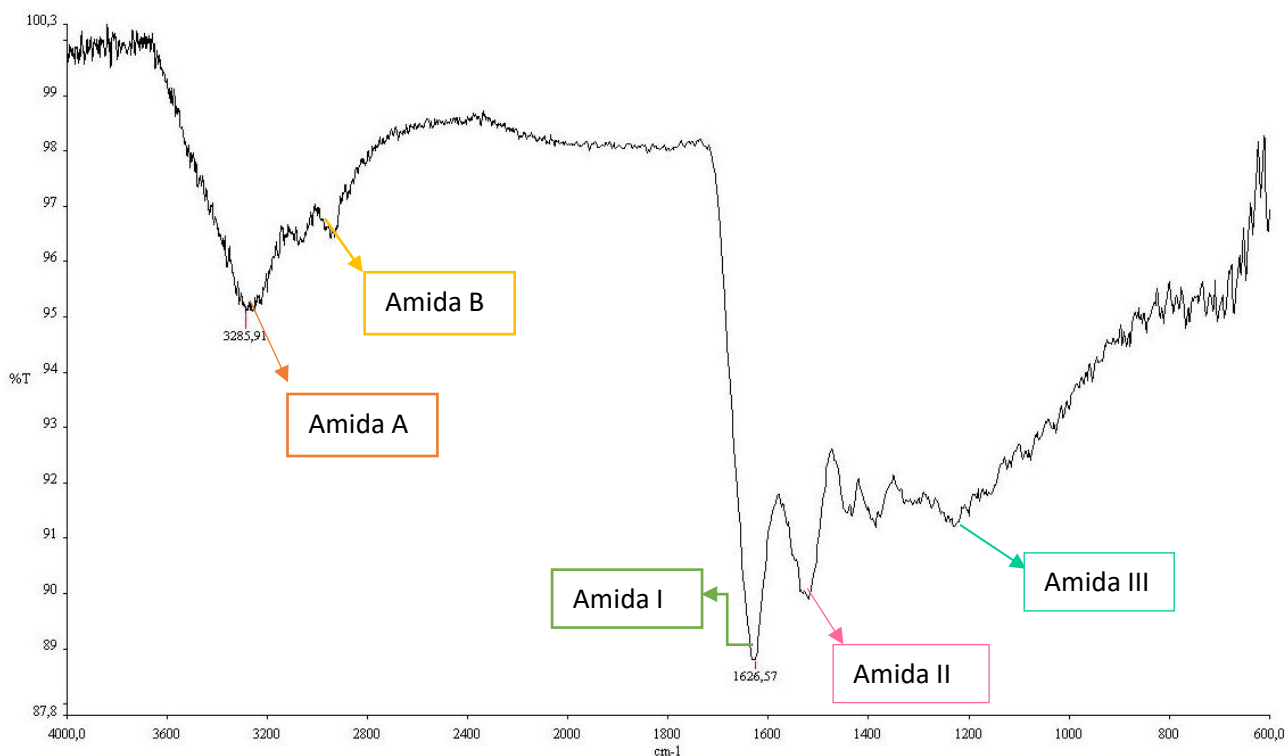


Figura 14. Espectro IR del estándar comercial del colágeno. Utilizado como referencia para las muestras obtenidas.

En la Fig. 14, se puede observar el espectro del estándar en el que muestra la estructura secundaria de las proteínas de colágeno como; la banda amida A en la posición 3285 cm^{-1} esta banda surge de la vibración de estiramiento del enlace N-H, la banda amida B se observa en la posición 2928 cm^{-1} . La vibración de estiramiento C=O de la columna vertebral de la cadena polipeptídica se encontró en 1626 cm^{-1} , se le atribuye a la amida tipo I. Mientras que la banda de proteína que se produce entre los $1500\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ está asociada a los modos de flexión del enlace C-H, atribuida a la amida II. Por otro lado, los picos que se observan en el rango de $1200\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ pueden pertenecer a la amida III estas bandas surgen de una combinación de varios modos vibracionales, incluyendo las vibraciones de flexión N-H, estiramiento C-N y estiramiento C-C en el grupo amida, validando así la integridad de las proteínas en la conformación de estructura molecular del colágeno. Las diferencias entre las amidas A, B, I, II Y III radican en los rangos de frecuencia, modos vibracionales implicados y la información que puede proporcionar sobre el colágeno.

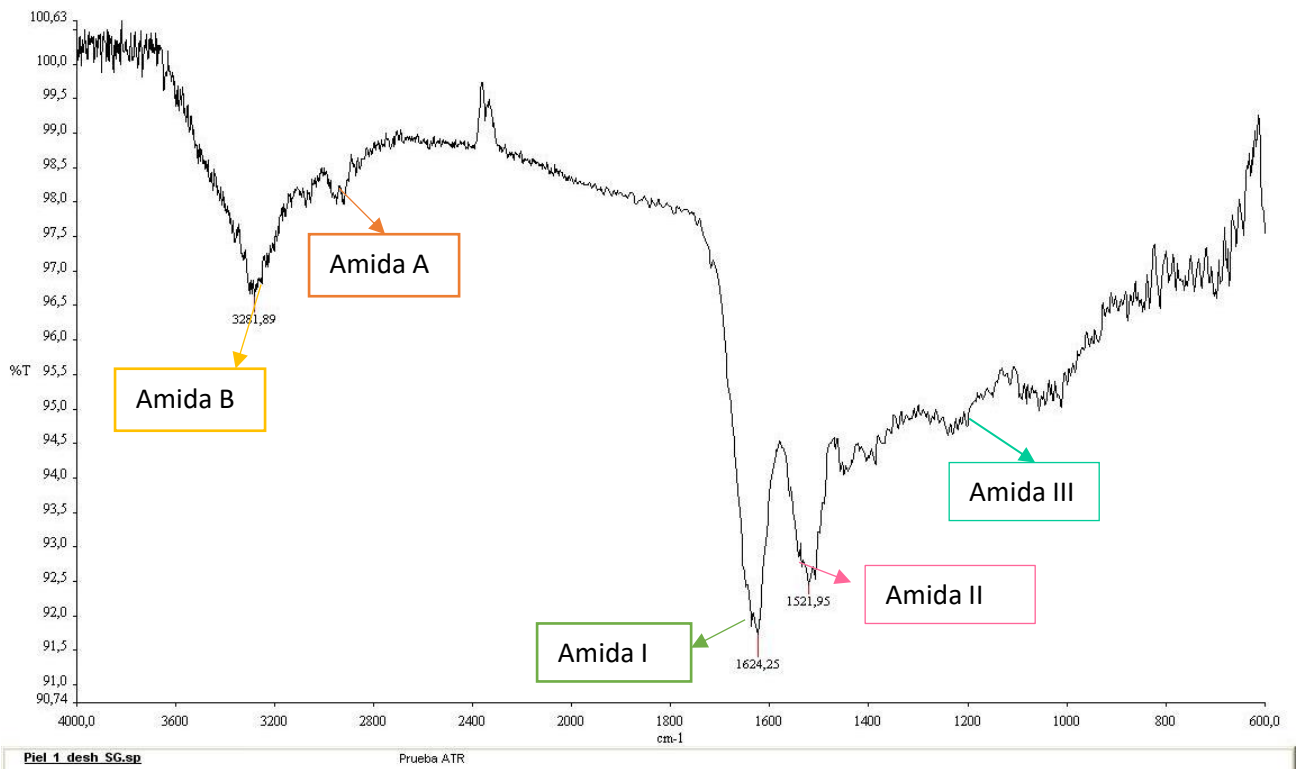


Figura 15. Espectro IR de la MUESTRA 1 de piel y escamas deshidratadas.

En la Fig. 15, se muestra el espectro obtenido para la MUESTRA 1 de piel y escamas deshidratadas en él se observa la estructura secundaria de las proteínas de colágeno como: la banda amida A en la posición 3281 cm^{-1} . La vibración de estiramiento $\text{C}=\text{O}$ de la columna vertebral de la cadena polipeptídica se encontró en 1624 cm^{-1} . Mientras que la banda de proteína que se produce entre los 1521 cm^{-1} está asociada a la amida II.

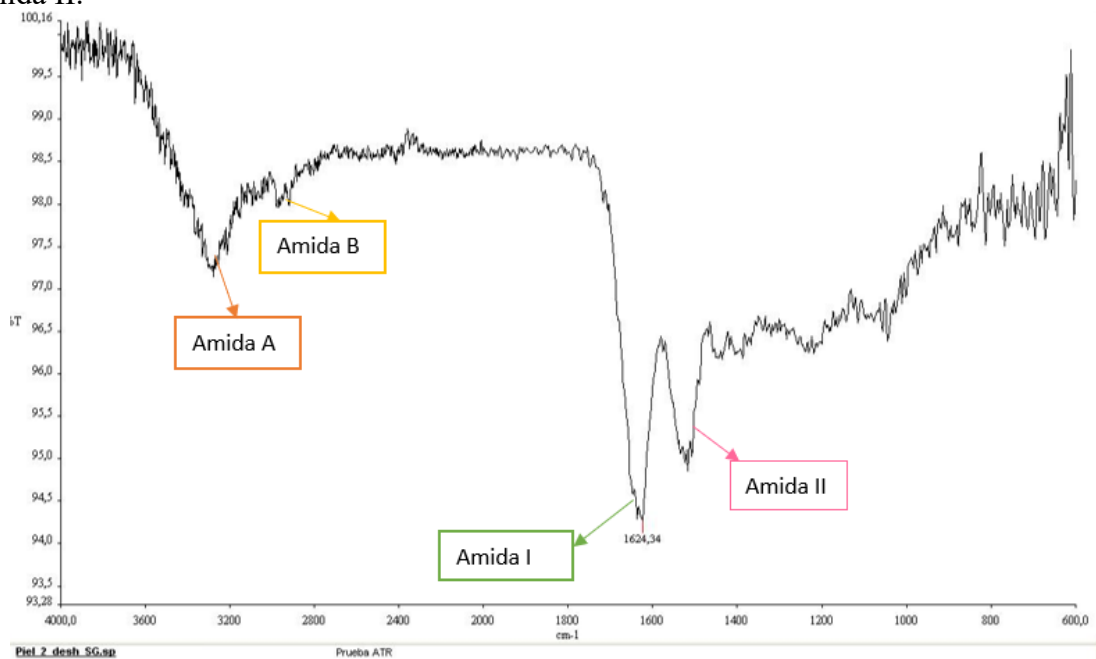


Figura 16. Espectro IR de la MUESTRA 2 de piel y escamas deshidratadas.

En la Fig. 16, se muestra el espectro obtenido de la MUESTRA 2 de piel y escamas deshidratadas en él se puede observar la estructura secundaria de las proteínas de colágeno como: la banda amida A en el primer pico observado de izquierda a derecha. La vibración de estiramiento C=O de la columna vertebral de la cadena polipeptídica se encontró en 1624 cm^{-1} . Mientras que la banda de proteína que se produce entre los $1500\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ está asociada a los modos de flexión del enlace N-H. Sin embargo, los picos no son tan claros debido a la presencia de ruido.

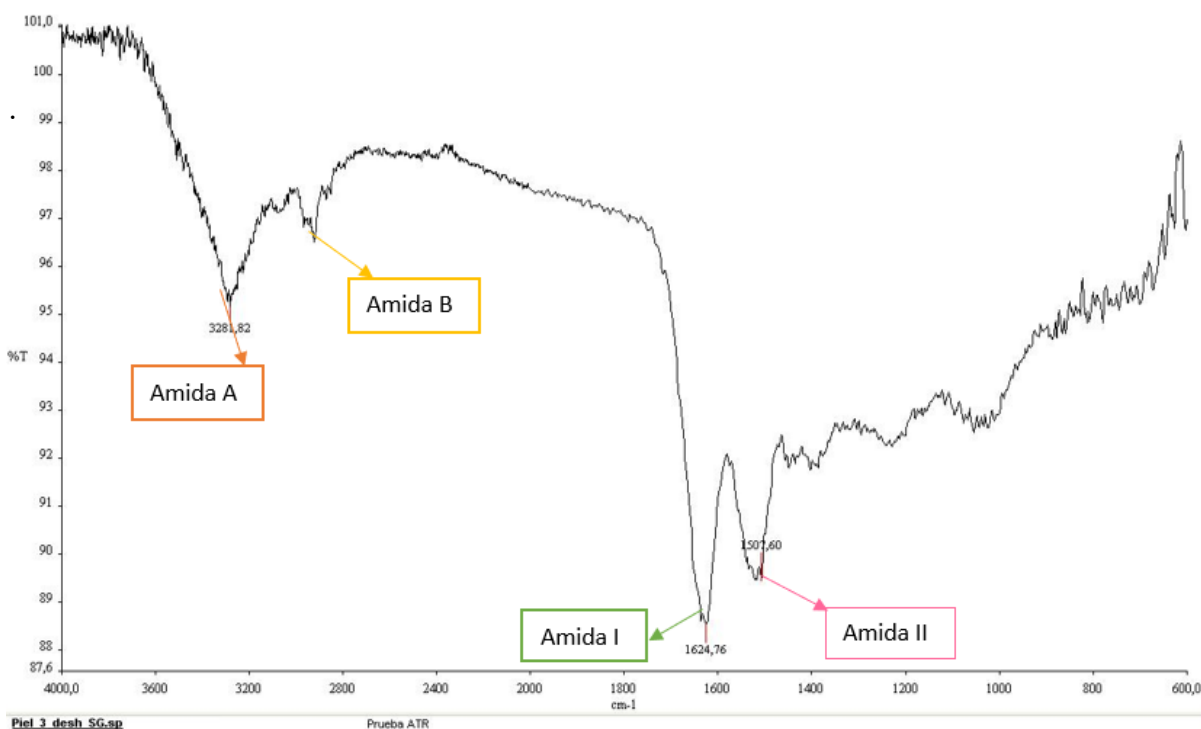


Figura 17. Espectro IR de la MUESTRA 3 de piel y escamas deshidratadas.

En la Fig. 17, el espectro muestra la estructura secundaria de las proteínas de colágeno como: la banda amida A en la posición 3281 cm^{-1} . La vibración de estiramiento C=O de la columna vertebral de la cadena polipeptídica se encontró en 1624 cm^{-1} . Mientras que la banda de proteína que se produce entre los 1501 cm^{-1} está asociada a los modos de flexión del enlace N-H, amida II.

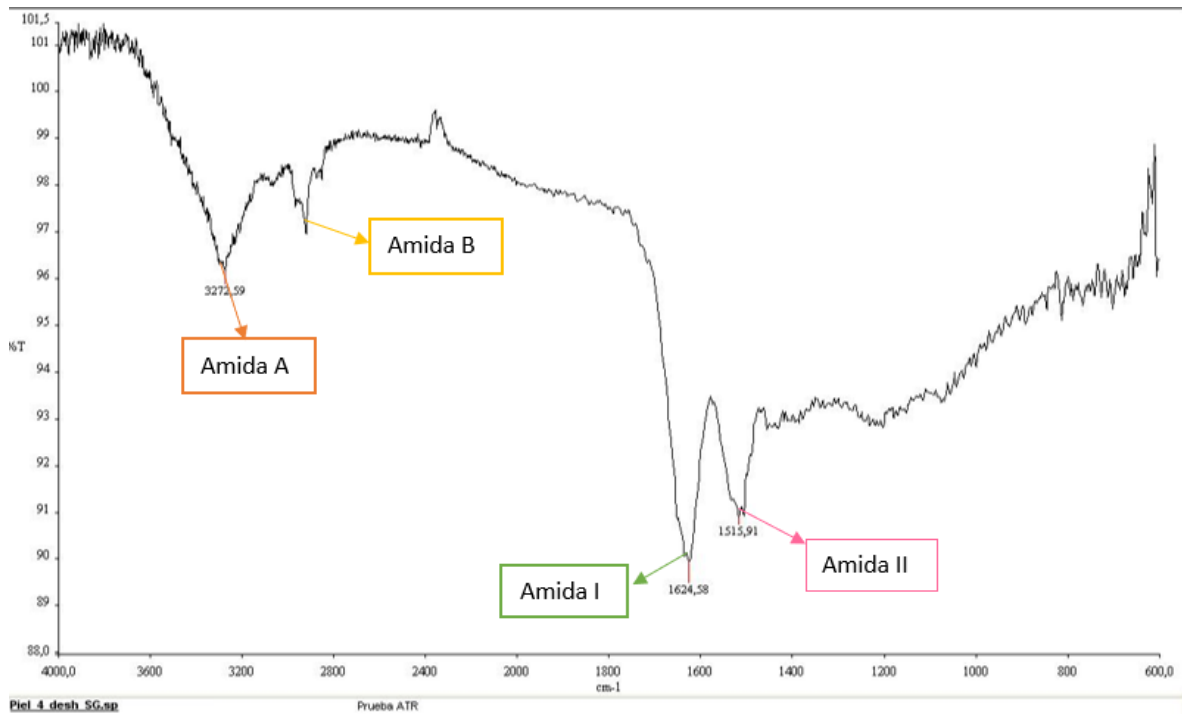


Figura 18. Espectro IR de la MUESTRA 4 de piel y escamas deshidratadas.

En la Fig. 18, el espectro muestra la estructura secundaria de las proteínas de colágeno como: la banda amida A en la posición 3271 cm⁻¹. La vibración de estiramiento C=O de la columna vertebral de la cadena polipeptídica se encontró en 1624 cm⁻¹. Mientras que la banda de proteína que se produce entre los 1515 cm⁻¹ está asociada a los modos de flexión del enlace N-H.

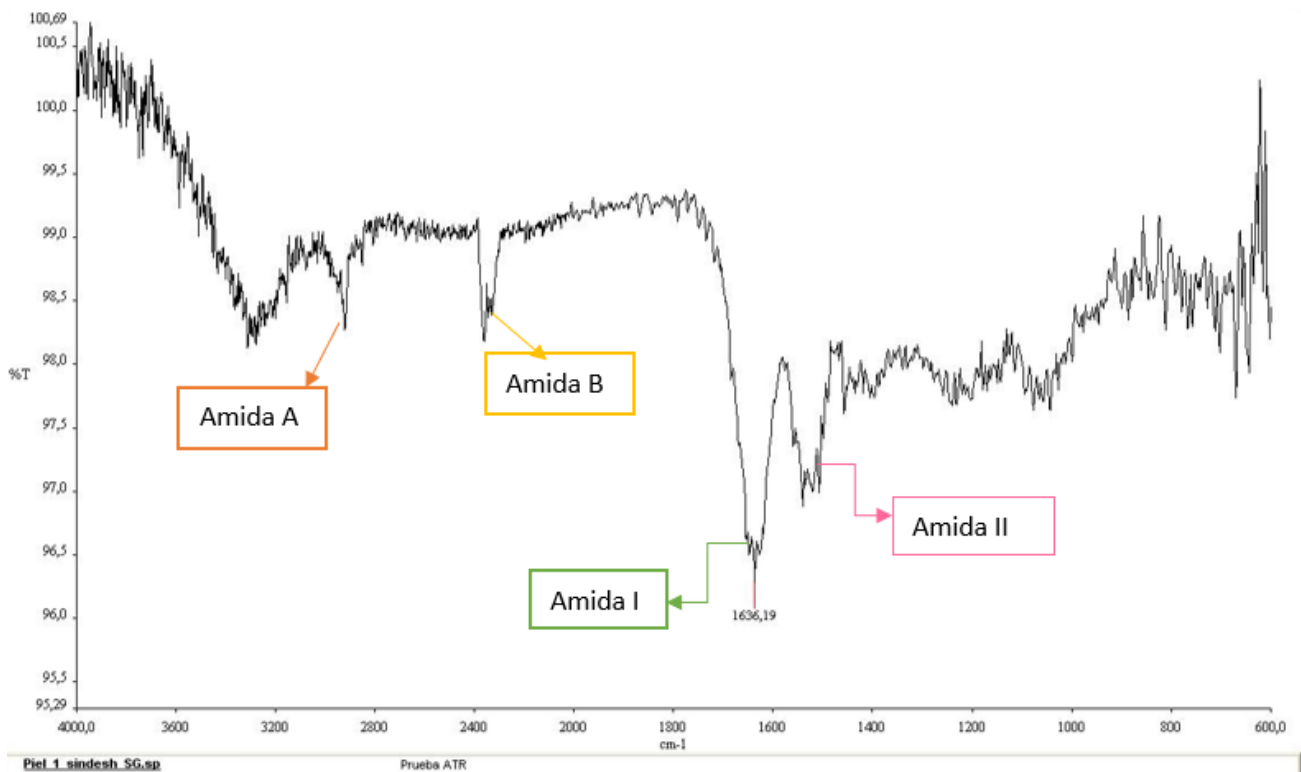


Figura 19. Espectro IR de la MUESTRA 1 de piel y escamas sin deshidratar.

En la Fig. 19, el espectro muestra la vibración de estiramiento C=O de la columna vertebral de la cadena polipeptídica se encontró en 1636 cm^{-1} . Mientras que los otros picos son difíciles de determinar debido a la presencia de ruido esto se puede deber al tratamiento que se sometió la muestra y que al molerla no se pudo obtener un polvo homogéneo.

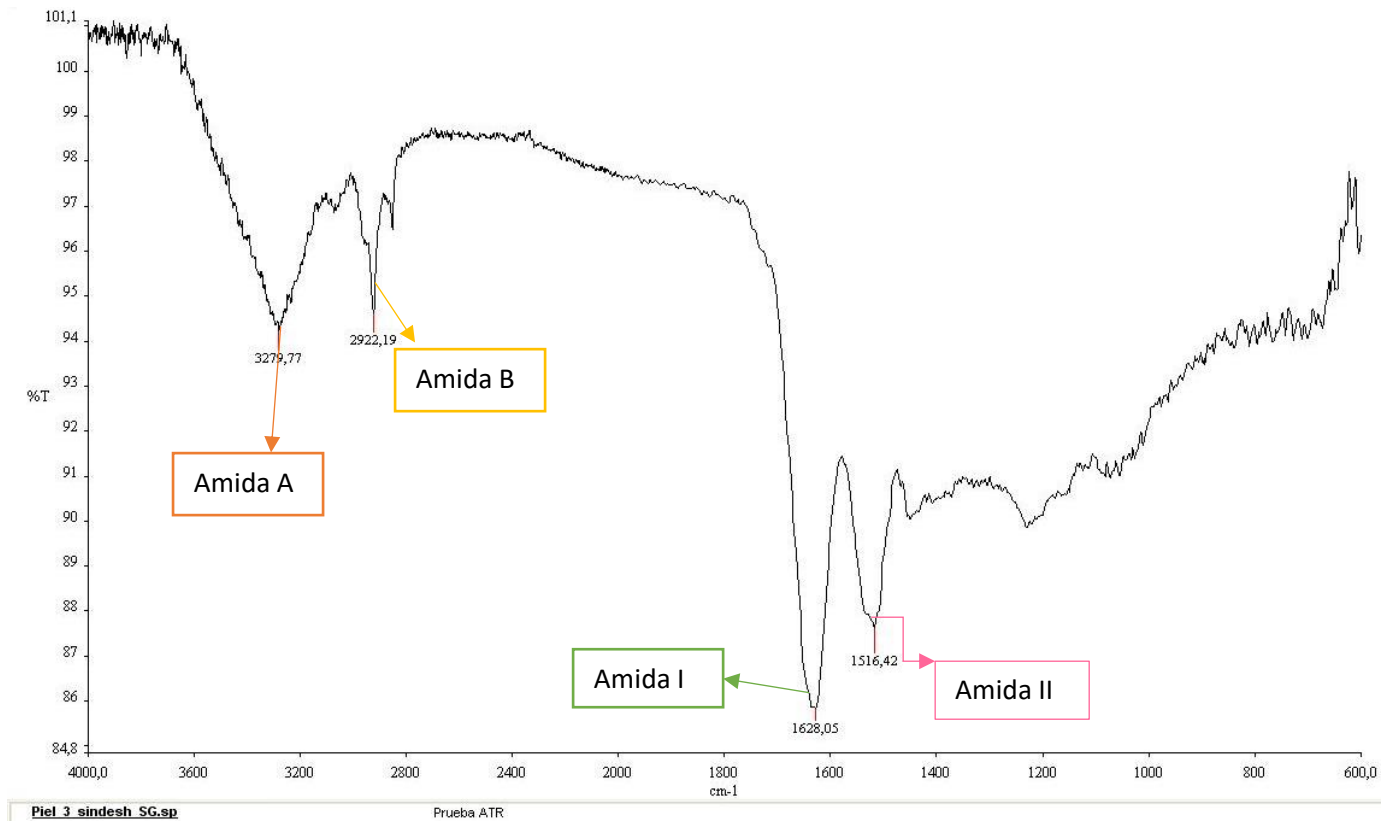


Figura 20. Espectro IR de la MUESTRA 3 de piel y escamas sin deshidratar.

En la Fig. 20, el espectro muestra la estructura secundaria de las proteínas de colágeno como; la banda amida A en la posición 3279 cm^{-1} , la banda amida B se observa en la posición 2922 cm^{-1} . La vibración de estiramiento C=O de la columna vertebral de la cadena polipeptídica se encontró en 1628 cm^{-1} . Mientras que la banda de proteína que se produce en el 1516 cm^{-1} está asociada a los modos de flexión del enlace N-H.

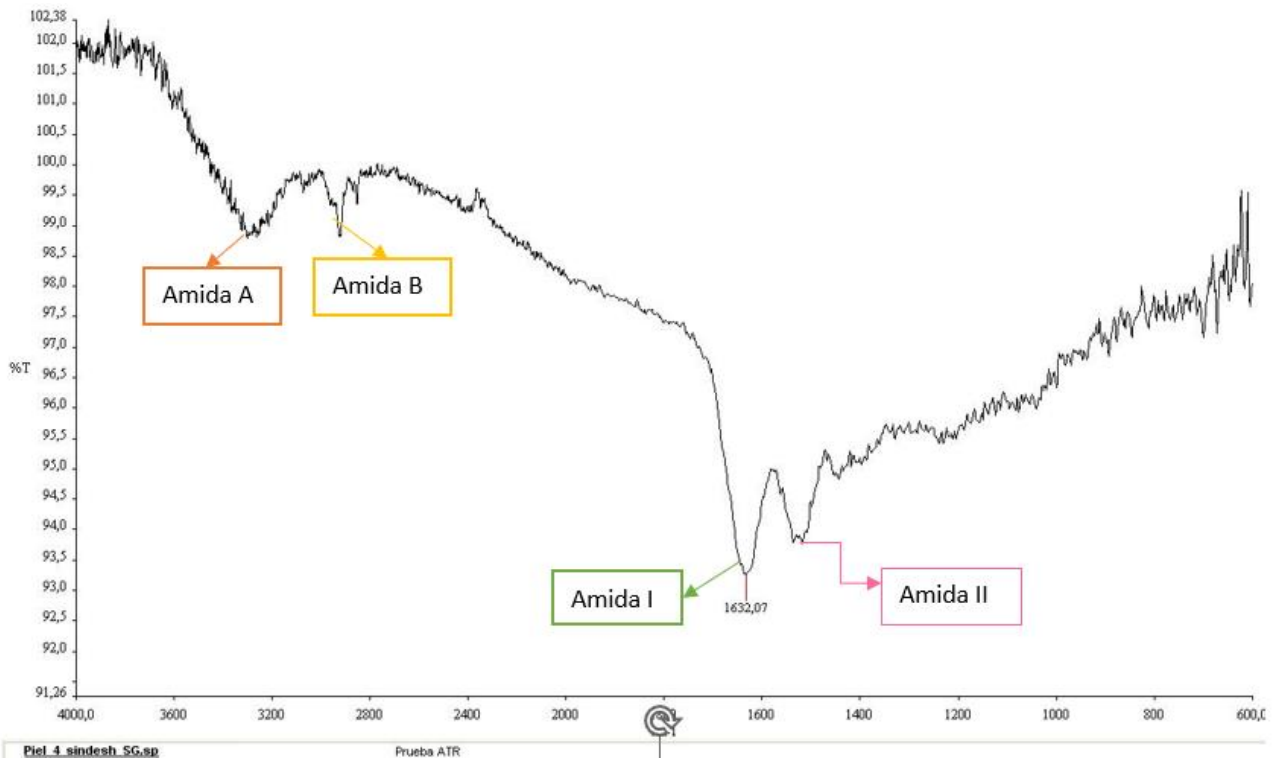


Figura 21: Espectro IR de la MUESTRA 4 de piel y escamas sin deshidratar.

En la Fig. 21, el espectro muestra la vibración de estiramiento C=O de la columna vertebral de la cadena polipeptídica se encontró en 1632 cm^{-1} . Mientras que los otros picos son difíciles de determinar debido a la presencia de ruido esto se puede deber al tratamiento que se sometió la muestra y que al molerla no se pudo obtener un polvo homogéneo.

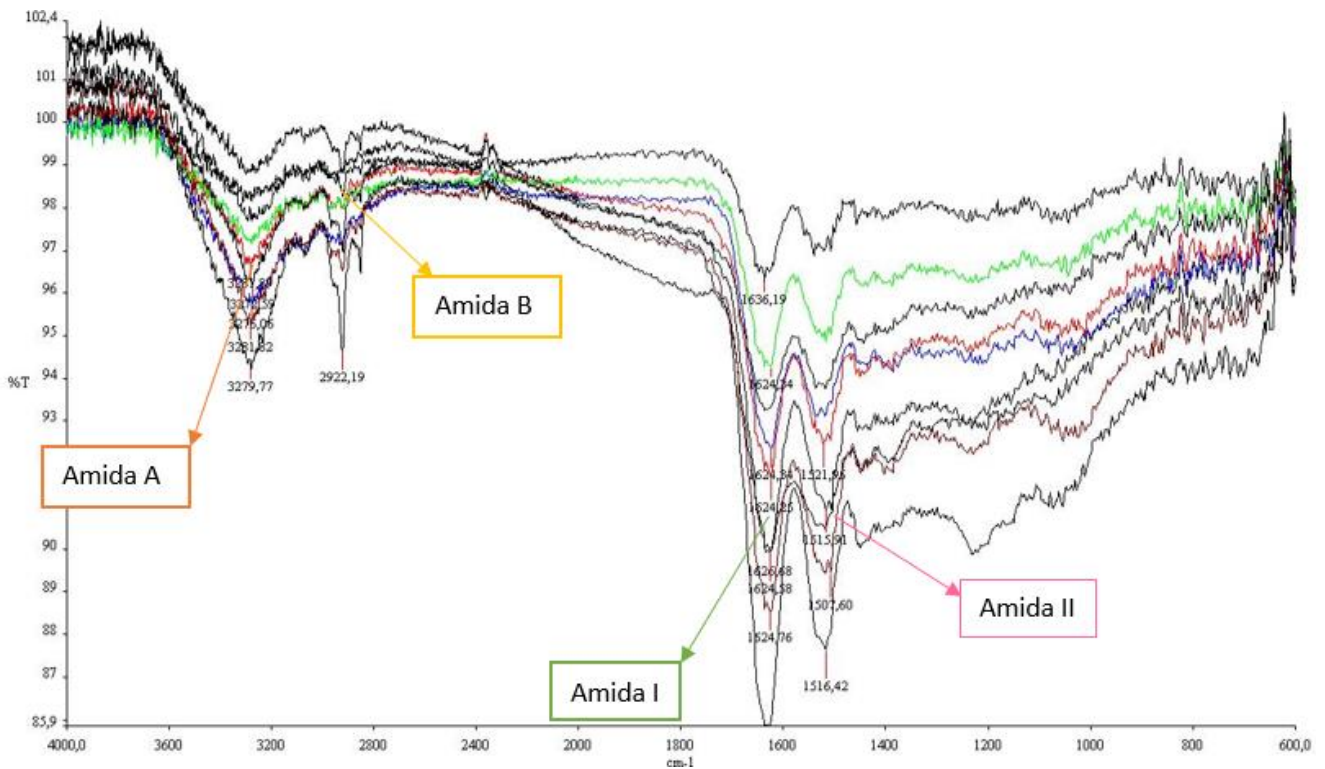


Figura 22. Espectros del colágeno obtenidos de las muestras junto con el estándar.

En la Fig. 22, se muestra los espectros FT-IR obtenidos de las muestras analizadas tanto de la piel y escamas deshidratadas como la piel y escamas no deshidratadas. Además, también se encuentra el espectro FT-IR del colágeno hidrolizado comercial utilizado como estándar. Al comparar los espectros se obtiene picos muy similares, lo que indica que las estructuras de las muestras tratadas son colágeno tipo I, los picos que destacan en todos los espectros son los de la amida A, vibración de estiramiento C=O de la columna vertebral de la cadena polipeptídica y la flexión del enlace N-H.

En la Tabla 12, muestra los principales grupos funcionales del colágeno tipo I identificados por FT-IR. El FT-IR es una herramienta que se emplea en la evaluación y reconocimiento de la presencia y la composición química del colágeno. Es posible observar diferencias en la anchura y altura de las señales correspondientes a los espectros de las muestras esto se le puede atribuir a las diferentes condiciones experimentales de cada estudio (Jafari, et al., 2020).

Tabla 12. Grupos funcionales presentes en el colágeno tipo I

Tipo de amida	Origen de la señal	Longitud de onda cm^{-1}
A	N-H estiramiento en el grupo amida	3300-3500
B	N-H flexión en el grupo amida	1800-2600
I	C=O estiramiento	1620-1800
II	N-H flexión con C-N estiramiento	1590 -1650
III	N-H flexión	1200-1400

5.7 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICA, FÍSICOQUÍMICAS DE LA BIOPELÍCULA DE COLÁGENO.

Tabla 13. Características organolépticas, fisicoquímicas del estándar de colágeno hidrolizado.

Estándar comercial de colágeno hidrolizado	Parámetro	Resultado	Imagen referencial
Método Sensorial	Aspecto	Sólido	



	Color	Transparente ligeramente opaco
	Olor	Inoloro
	Sabor	Neutro
Características fisicoquímicas	Peso	4g
	pH	7.4
	Extensibilidad	2cm

Tabla 14. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas no deshidratadas

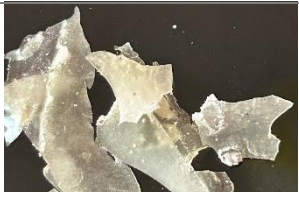
MUESTRA 1 escamas deshidratadas	piel y no	Parámetro	Resultado	Imagen referencial
Método Sensorial		Aspecto	Sólido	 Figura 24: Película de la muestra 1
		Color	Transparente opaco	
		Olor	Inoloro	
		Sabor	Neutro	
Características fisicoquímicas		Peso	4g	
		pH	7.2	
		Extensibilidad	1.6cm	

Tabla 15. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 2 de piel y escamas no deshidratadas



MUESTRA 2 escamas deshidratadas	piel y no	Parámetro	Resultado	Imagen referencial
Método Sensorial		Aspecto	Sólido	 Figura 25: Película de la muestra 2
		Color	Blanco grisáceo	
		Olor	Inoloro	
		Sabor	Neutro	
Características fisicoquímicas		Peso	3g	
		pH	7	
		Extensibilidad	1.5	

Tabla 16. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 3 de piel y escamas no deshidratadas

MUESTRA 3 escamas deshidratadas	piel y no	Parámetro	Resultado	Imagen referencial
Método Sensorial		Aspecto	Sólido	
		Color	Transparente opaco	
		Olor	Inoloro	
		Sabor	Neutro	
Propiedades fisicoquímicas		Peso	4 g	
		pH	7.2	

Extensibilidad 1.7

Figura 26: Película de la muestra 3

Tabla 17. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas no deshidratadas

MUESTRA 4 piel y escamas no deshidratadas	Parámetro	Resultado	Imagen referencial
Método Sensorial	Aspecto	Sólido	
	Color	Blanco grisáceo	
	Olor	Inoloro	
	Sabor	Neutro	
Características fisicoquímicas	Peso	3g	Figura 27: Película de la muestra 4
	pH	6.9	
	Extensibilidad	1cm	

Tabla 18. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas


MUESTRA 1 piel y escamas deshidratadas	Parámetro	Resultado	Imagen referencial
Método Sensorial	Aspecto	Sólido	
	Color	Traslucido marrón	
	Olor	Inoloro	
	Sabor	Neutro	
Características fisicoquímicas	Peso	3g	Figura 28: Película de la muestra 1 deshidratada
	pH	6.9	
	Extensibilidad	1cm	

Tabla 19. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas


MUESTRA 2 piel y escamas deshidratadas	Parámetro	Resultado	Imagen referencial
Método Sensorial	Aspecto	Sólido	
	Color	Transparente opaco	
	Olor	Inoloro	
	Sabor	Neutro	
Características fisicoquímicas	Peso	3g	Figura 29: Película de la muestra 2 deshidratada
	pH	7.1	
	Extensibilidad	1.2cm	

Tabla 20. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas

MUESTRA 3 piel y escamas deshidratadas	Parámetro	Resultado	Imagen referencial
Método Sensorial	Aspecto	Sólido	
	Color	Blanco	
	Olor	Inoloro	
	Sabor	Neutro	
Características fisicoquímicas	Peso	4g	
	pH	6.8	
	Extensibilidad	1.5 cm	

Figura 30: Película de la muestra 3 deshidratada

Tabla 21. Características organolépticas, fisicoquímicas de la biopelícula obtenida a partir de la muestra 1 de piel y escamas deshidratadas

MUESTRA 4 piel y escamas deshidratadas	Parámetro	Resultado	Imagen referencial
Método Sensorial	Aspecto	Sólido	
	Color	Transparente opaco	
	Olor	Inoloro	
	Sabor	Neutro	
Características fisicoquímicas	Peso	3g	
	pH	6.8	
	Extensibilidad	1.3cm	

Figura 31: Película de la muestra 4 deshidratada

Las biopelículas se prepararon a partir del colágeno extraído de la piel de corvina utilizando glicerol, ácido acético y almidón de yuca por los beneficios que puede presentar a ser utilizadas junto al colágeno.

El almidón de yuca se utiliza habitualmente como agente espesante o estabilizador en aplicaciones alimentarias e industriales. Cuando se calienta en presencia de agua, el almidón de yuca se gelatiniza, lo que le permite formar una estructura gelatinosa y espesar líquidos.

Si el colágeno y el almidón de yuca se combinan en una mezcla, es poco probable que se produzca una reacción química significativa entre ellos. En su lugar, la interacción sería probablemente de naturaleza física, por ejemplo, el almidón de yuca actúa como agente espesante para las soluciones que contenga colágeno.

Se le añadió glicerina por sus propiedades plastificantes, lo que da como resultado un material más flexible y menos frágil (*Ionescu, et al., 2018*). Además, mejora la estabilidad y las propiedades mecánicas.

El efecto del ácido acético en la creación de la biopelícula recae en la variación del pH, debido a que acidifica el entorno disminuyendo la posibilidad de desnaturalización o degradación de la estructura del colágeno. Por otro lado, el ácido acético puede inducir la reticulación de las moléculas de colágeno, es decir la reticulación se refiere a la formación de enlaces químicos entre las cadenas de colágeno, lo que conduce a una mayor estabilidad estructural y resistencia a la degradación (*Bjarnsholt, et al., 2015*). Además, presenta propiedades antimicrobianas y se utiliza como conservante natural.

Todas las biopelículas cumplen con las características las cuales son; ser biocompatibles, presentar buena resistencia mecánica e integridad estructural, ser biodegradables, y capacidad para absorber agua.

Ser biocompatibles es una característica importante dado que al ser toleradas por el organismo es poco probable que cause reacciones adversas al entrar en contacto con sistemas biológicos.

Al presentar buena resistencia mecánica e integridad estructural, el colágeno permite que la película mantenga su estructura y resista la deformación.

Debido a que el colágeno es un material biodegradable atribuye la propiedad de descomponerse y metabolizarse de forma natural mediante procesos biológicos lo cual disminuye la contaminación. En este caso en especial al poder ser utilizado como un empaque para frutas disminuirá el consumo de plásticos.

Al poseer la capacidad de absorber agua, le confiere excelentes propiedades de hidratación lo que es importante para aplicaciones como cicatrización de heridas y la ingeniería de tejidos, donde un entorno hidratado es beneficioso para el crecimiento y migración celular.

El pH de la matriz extracelular de los tejidos en los que abunda el colágeno, como la piel o los tejidos conjuntivos, suele rondar el pH 7,4, que es ligeramente alcalino (*Amis, et al., 1985*). Este intervalo de pH es importante para mantener la integridad estructural y la funcionalidad de las moléculas de colágeno.

La película con mejores características sensoriales y fisicoquímicas fue la realizada a partir de la MUESTRA 1 de piel y escamas no deshidratadas. Sin embargo, cabe destacar que todas las películas presentan un buen pH y extensibilidad, por lo cual fue importante las características sensoriales para elegir la mejor biopelícula.

5.8 PORCENTAJE DE HUMEDAD

$$\%humedad = \frac{P_1 - P_2}{P_1} * 100$$

P_1 = masa inicial

P_2 = masa final después del secado

Muestras de piel y escamas no deshidratadas:

Muestra 1

$$\%humedad = \frac{42.9 - 4}{42.9} * 100$$

$$\%humedad = 90.67$$

Muestra 2

$$\%humedad = \frac{38.2 - 3}{38.2} * 100$$

$$\%humedad = 92.15$$

Muestra 3

$$\%humedad = \frac{39.6 - 4}{39.6} * 100$$

$$\%humedad = 89.89$$

Muestra 4

$$\%humedad = \frac{45 - 3}{45} * 100$$

$$\%humedad = 93.33$$

Muestras de piel y escamas deshidratadas:

Muestra 1

$$\%humedad = \frac{36.16 - 3}{36.16} * 100$$

$$\%humedad = 91.79$$

Muestra 2

$$\%humedad = \frac{26.1 - 3}{26.1} * 100$$

$$\%humedad = 88.51$$

Muestra 3

$$\%humedad = \frac{39.6 - 3}{38.2} * 100$$

$$\%humedad = 92.42$$

Muestra 4

$$\%humedad = \frac{50.2 - 3}{50.2} * 100$$

$$\%humedad = 94.02$$

La muestra que mayor porcentaje de humedad presentó fue la MUESTRA 4 de piel y escamas deshidratadas con un porcentaje de 94.02, mientras que la que menor porcentaje de humedad fue la MUESTRA 2 de piel y escamas deshidratadas con un porcentaje de 88.51.

La humedad desempeña un papel importante en la formación, el crecimiento y el comportamiento de las biopelículas. Los niveles elevados de humedad pueden favorecer a la adhesión microbiana y la formación de biopelícula. También, una humedad adecuada ayuda a mantener la estructura de la biopelícula. Además, influye en la adaptación y supervivencia de las biopelículas en diversos entornos (*Verstraeten, et al., 2008*).

6. CONCLUSIONES

En este estudio, los desechos de pescado que causan problemas ambientales se utilizaron para la extracción de colágeno el cual puede ser aplicado al área de alimentos como un empaquetamiento biodegradable de frutas. Los análisis tanto cualitativos como cuantitativos confirmaron la existencia de colágeno tipo I. El colágeno extraído exhibió importantes propiedades de resistencia, flexibilidad y biodegradabilidad lo cual lo hace aplicable para la formación de biopelículas.

La MUESTRA 1 de piel y escamas no deshidratadas presentó las mejores propiedades fisicoquímicas y los mejores resultados cualitativos y cuantitativos con respecto a las otras muestras del colágeno obtenido.

La aplicación del método de hidrólisis básica y solubilización ácida dieron como resultado la obtención de colágeno.

7. REFERENCIAS

- Amis, E. J., Carriere, C. J., Ferry, J. D., & Veis, A. (1985). Effect of pH on collagen flexibility determined from dilute solution viscoelastic measurements. *International Journal of Biological Macromolecules*, 7(3), 130-134.
- Almeida Cedeño, M. I. (2007). Estudio del comercio exterior del colágeno de piel de tilapia como referente para crear la industria en el Ecuador (doctoral dissertation).
- Arteaga, M., Merchán, D., Mendoza, L., & Ochoa, M. (2022). Residuos de pescado: impacto ambiental y utilización. *Pro Sciences: Revista de Producción, Ciencias e Investigación*, 6(42), 445-452.
- Bhumbar, M. V., Bhagwat, P. K., & Dandge, P. B. (2019). Extraction and characterization of acid soluble collagen from fish waste: Development of collagen-chitosan blend as food packaging film. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(2), 102983.
- Bjarnsholt, T., Alhede, M., Jensen, P. Ø., Nielsen, A. K., Johansen, H. K., Homøe, P., ... & Kirketerp-Møller, K. (2015). Antibiofilm properties of acetic acid. *Advances in wound care*, 4(7), 363-372.
- Bozec, L., & Odlyha, M. (2011). Thermal denaturation studies of collagen by microthermal analysis and atomic force microscopy. *Biophysical journal*, 101(1), 228-236.
- Carter & Gregorich. (2007). *Methods of Analysis Second Edition Soil Sampling*.
- Chang, H. J., Xu, X. L., Zhou, G. H., Li, C. B., & Huang, M. (2012). Effects of characteristics changes of collagen on meat physicochemical properties of beef semitendinosus muscle during ultrasonic processing. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 285-297.
- Chotphruethipong, L., Battino, M., & Benjakul, S. (2020). Effect of stabilizing agents on characteristics, antioxidant activities and stability of liposome loaded with hydrolyzed collagen from defatted Asian sea bass skin. *Food chemistry*, 328, 127127.
- García Nava, E. (2017). Aprovechamiento de escamas de pescado provenientes de residuos sólidos urbanos RSU para la obtención de colágeno y su uso en la preparación de composites con hidroxiapatita (Master's thesis, Universidad Autónoma Metropolitana (México). Unidad Azcapotzalco. Coordinación de Servicios de Información.).
- Gómez-Estaca, J., Giménez, B., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2009). Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering*, 92(1), 78-85.
- Gómez-Guillén, M. C., Pérez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Giménez, B., & Montero, P. (2009). Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology*, 20(1), 3-16.
- Gontard, N., Duchez, C., CUQ, J. L., & Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International journal of food science & technology*, 29(1), 39-50.

- Guerrero Guanín, J. J. (2019). Elaboración de crema facial a partir del colágeno presente en las escamas de pescado (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Gurung, N., Ray, S., Bose, S., & Rai, V. (2013). A broader view: microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. *BioMed research international*, 2013.
- Haug, I. J., & Draget, K. I. (2011). Gelatin. In *Handbook of food proteins* (pp. 92-115). Woodhead Publishing.
- Ionescu, A. C., Cazzaniga, G., Ottobelli, M., Ferracane, J. L., Paolone, G., & Brambilla, E. (2018). In vitro biofilm formation on resin-based composites cured under different surface conditions. *Journal of dentistry*, 77, 78-86.
- Jafari, H., Lista, A., Siekapen, M. M., Ghaffari-Bohlouli, P., Nie, L., Alimoradi, H., & Shavandi, A. (2020). Fish collagen: Extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering. *Polymers*, 12(10), 2230.
- Kim, S. J., & Ustunol, Z. (2001). Solubility and moisture sorption isotherms of whey-protein-based edible films as influenced by lipid and plasticizer incorporation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(9), 4388-4391.
- Kolel, A., Riba, A. R., Natan, S., Tchaicheeyan, O., Saias, E., & Lesman, A. (2020). Controlled Strain of 3D Hydrogels under Live Microscopy Imaging. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (166), e61671.
- Kyriakidou, M., Mavrogenis, A. F., Kyriazis, S., Markouizou, A., Theophanides, T., & Anastassopoulou, J. (2016). An FT-IR spectral analysis of the effects of γ -radiation on normal and cancerous cartilage. *in vivo*, 30(5), 599-604
- Li, G. Y., Fukunaga, S., Takenouchi, K., & Nakamura, F. (2005). Comparative study of the physiological properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate as cosmetic materials. *International journal of cosmetic science*, 27(2), 101-106.
- Li, Q., Liu, H., Jiang, S., Zhang, M., Shan, K., Ke, W., ... & Li, C. (2022). The effects of high pressure treatment on the structural and digestive properties of myoglobin. *Food Research International*, 156, 111193.
- Lin, Y. K., & Liu, D. C. (2006). Comparison of physical–chemical properties of type I collagen from different species. *Food Chemistry*, 99(2), 244-251.
- Ma, Z., Mao, Z., & Gao, C. (2007). Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60(2), 137-157.
- Metreveli, N. O., Jariashvili, K. K., Namicheishvili, L. O., Svintradze, D. V., Chikvaidze, E. N., Sionkowska, A., & Skopinska, J. (2010). UV–vis and FT-IR spectra of ultraviolet irradiated collagen in the presence of antioxidant ascorbic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(3), 448-455.
- Mosquera Jordán, M. E. (2014). Nanoencapsulación de hidrolizados peptídicos con actividades biológicas procedentes de subproductos de la pesca.

Moskowitz, R. W. (2000, October). Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 30, No. 2, pp. 87-99). WB Saunders.

Nam, K.A., You, S.G., Kim, S.M. (2008), "Collagens and biological properties of their enzymatic hydrolysates", *J. Food Sci.*, 73(2), 249-255

Nunes, P. S., Jesus, D. C., Bezerra, M. S., Souza, J. C. C., Silva, F. A., Serafini, M. R., y de Souza Araújo, A. A. (2015). Validation of a UV-VIS Spectrophotometric method for the determination of usnic acid/collagen-based membranes. *Scientia Plena*, 11(9).

Okuyama, K. (2008). Revisiting the molecular structure of collagen. *Connective tissue research*, 49(5), 299-310.

Olivero Garache, M. D. R., Zapata Gómez, D. J., & Antón Quedo, M. A. (2001). Uso de algunos modelos en el proceso enseñanza-aprendizaje como medio de enseñanza de la química en la educación media (Doctoral dissertation).

Patiño, MG, Neiders, ME, Andreana, S., Noble, B. y Cohen, RE (2002). Colágeno: una visión general. *Odontología de implantes* , 11 (3), 280-285.

.Pérez-Mateos, M., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2009). Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 53-61.

Petibois, C., & Déléris, G. (2006). Chemical mapping of tumor progression by FT-IR imaging: towards molecular histopathology. *TRENDS in Biotechnology*, 24(10), 455-462.

Pinckney, A. J. (1961). The biuret test as applied to the estimation of wheat protein. *Cereal Chemistry*, 38, 501-506.

Politis, G.G; León, D. C. 2010. Patrones adaptativos de los cazadores-recolectores-pescadores de la margen occidental de Paraná inferior-Plata. En *Aequeología de cazadores recolectores en la cuenca del Plata*.Eds: Cocco, G.; Feuillet Terzaghi, M.R. Santa Fe, Centro de Estudios Hispanoamericanos, 63-86 pp.

Raz, C., Piper, D., Haller, R., Nicod, H., Dusart, N., & Giboreau, A. (2008). From sensory marketing to sensory design: How to drive formulation using consumers' input?. *Food quality and preference*, 19(8), 719-726.

Riaz, T., Zeeshan, R., Zarif, F., Ilyas, K., Muhammad, N., Safi, S. Z., ... & Rehman, I. U. (2018). FTIR analysis of natural and synthetic collagen. *Applied Spectroscopy Reviews*, 53(9), 703-746.

Serrano Gaona, J. C. (2011). Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachyomus*). Departamento de Ingeniería Química y Ambiental.

Shoulders, M. D., & Raines, R. T. (2009). Collagen structure and stability. *Annual review of biochemistry*, 78, 929-958.

- Sionkowska, A., Skrzyński, S., Śmiechowski, K., & Kołodziejczak, A. (2017). The review of versatile application of collagen. *Polymers for Advanced Technologies*, 28(1), 4-9.
- Tang, C., Zhou, K., Xie, Y., Ma, Y., Zhu, Y., Zhang, W., ... & Xu, B. (2023). Effects of thermal processing on the texture and collagen characteristics of ready-to-eat chicken claw. *Journal of Texture Studies*, 54(2), 258-267.
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in food science & technology*, 14(3), 71-78.
- Verstraeten, N., Braeken, K., Debkumari, B., Fauvart, M., Fransaeer, J., Vermant, J., & Michiels, J. (2008). Living on a surface: swarming and biofilm formation. *Trends in microbiology*, 16(10), 496-506.
- Villa Sánchez, J. A. (2014). Transporte de productos químicos nocivos líquidos a granel en buques especializados.
- Wu, W., He, L., Liang, Y., Yue, L., Peng, W., Jin, G., & Ma, M. (2019). Preparation process optimization of pig bone collagen peptide-calcium chelate using response surface methodology and its structural characterization and stability analysis. *Food Chemistry*, 284, 80-89.
- Yamauchi, K., Manabe, N., Matsumoto, Y., Takenoyama, S. I., & Yamauchi, K. E. (2014). Increased collagen III in culled chicken meat after feeding dietary wood charcoal and vinegar contributes to palatability and tenderness. *Animal Science Journal*, 85(4), 468-480
- Yang, S. H., Cheng, P. H., Banta, H., Piotrowska-Nitsche, K., Yang, J. J., Cheng, E. C., ... & Chan, A. W. (2008). Towards a transgenic model of Huntington's disease in a non-human primate. *Nature*, 453(7197), 921-924.
- Zhang, Y., Liu, W., Li, G., Shi, B., Miao, Y., & Wu, X. (2007). Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food chemistry*, 103(3), 906-912.

ANEXOS



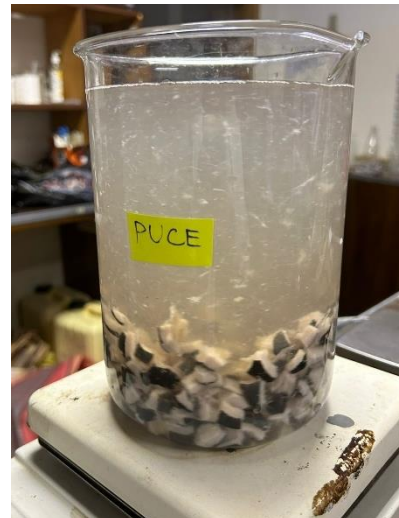
Anexo 2: Equipo UV-Vis utilizado



Anexo 1: Reducción del área de contacto de piel y escamas frescas.



Anexo 4: Cristales de colágeno.



Anexo 3: Fase de lavado.



Anexo 6: Filetes de pescado y escamas en proceso de deshidratación.



Anexo 5: Biopelícula de gelatina.



Anexo 7: Piel de pescado deshidratadas.



Anexo 8: Prueba de Biuret realizada en diferentes concentraciones