

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**“CONDICIONES DE HIDRÓLISIS PARA LA OBTENCIÓN DE  
QUERATINA A PARTIR DEL RESIDUO DE CABELLO HUMANO  
GENERADO EN LAS PELUQUERÍAS”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO QUÍMICO**

**ISRAEL GUTIÉRREZ FLORES**

**ANDREA MILAGROS MONTOYA ALVARADO**

**ANTHONY HIGINIO ERAZO PADILLA**

**Callao, 2022**

**PERÚ**



(Resolución N° 019-2021-CU del 20 de enero de 2021)

**ANEXO 1**

**ACTA N° 328 DE SUSTENTACIÓN DE TESIS SIN CICLO DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO QUÍMICO**

**LIBRO 02 FOLIO No. 147 ACTA N° 328 DE SUSTENTACIÓN DE TESIS SIN CICLO DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO QUÍMICO**

A los diecisiete días del mes octubre del año 2022, siendo las 18:00 horas, se reunió, en la sala meet: <https://meet.google.com/wmq-qitp-gbq>, el JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS para la obtención del título profesional de Ingeniero Químico de la Facultad de Ingeniería Química, conformada por los siguientes docentes ordinarios de la Universidad Nacional del Callao:

Ing. CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE	: Presidente
Ing. CALIXTO IPANAQUE MAZA	: Secretario
Ing. GUMERCINDO HUAMANI TAIPE	: Vocal
Ing. ALBERTINA DÍAZ GUTIÉRREZ	: Asesora

Se dio inicio al acto de sustentación de la tesis de los Bachilleres **MONTOYA ALVARADO ANDREA MILAGROS, ERAZO PADILLA ANTHONY HIGINIO, GUTIÉRREZ FLORES ISRAEL**, quién habiendo cumplido con los requisitos para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico, sustentan la tesis titulada **“CONDICIONES DE HIDRÓLISIS PARA LA OBTENCIÓN DE QUERATINA A PARTIR DEL RESIDUO DE CABELLO HUMANO GENERADO EN LAS PELUQUERÍAS”**, cumpliendo con la sustentación en acto público, de manera no presencial a través de la Plataforma Virtual, en cumplimiento de la declaración de emergencia adoptada por el Poder Ejecutivo para afrontar la pandemia del Covid- 19, a través del D.S. N° 044-2020-PCM y lo dispuesto en el DU N° 026-2020 y en concordancia con la Resolución del Consejo Directivo N°039-2020-SUNEDU-CD y la Resolución Viceministerial N° 085-2020-MINEDU, que aprueba las "Orientaciones para la continuidad del servicio educativo superior universitario";

Con el quórum reglamentario de ley, se dio inicio a la sustentación de conformidad con lo establecido por el Reglamento de Grados y Títulos vigente. Luego de la exposición, y la absolución de las preguntas formuladas por el Jurado y efectuadas las deliberaciones pertinentes, acordó: Dar por aprobado con la escala de calificación cualitativa muy buena y calificación cuantitativa 17, la presente tesis, conforme a lo dispuesto en el Art. 27 del Reglamento de Grados y Títulos de la UNAC, aprobado por Resolución de Consejo Universitario N° 099-2021- CU del 30 de junio del 2021.

Se dio por cerrada la Sesión a las 19:40 horas del día 17 del mes y año en curso.

**Presidente**

**Vocal**

**Secretario**

**Asesora**

## HOJA DE REFERENCIA DEL JURADO Y APROBACIÓN

### **Miembros Del Jurado**

Ing. ANCIETA DEXTRE CARLOS ALEJANDRO - Presidente

Ing. IPANAQUE MAZA CALIXTO - Secretario

Ing. HUAMANI TAIPE GUMERCINDO - Vocal

Ing. CARLOS PEREYRA LEONARDO RUFINO - Suplente

Ing. ALBERTINA DIAZ GUTIERREZ - Asesora de tesis

## **DEDICATORIA**

A nuestros padres Edith Alvarado, Carlos Montoya; Cecilia Flores, Israel Gutiérrez; Geovanna Padilla y Nilton Erazo, por todo el esfuerzo brindado para nuestro logro profesional.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por guiarnos en el camino correcto y darnos la oportunidad de crecer.

A nuestra asesora Albertina Díaz, por su apasionada vocación por la investigación.

# ÍNDICE

INDICE.....	1
INDICE DE FIGURAS.....	5
INDICE DE TABLAS.....	8
RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUCCIÓN.....	12
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	13
1.2 Formulación del problema.....	14
1.2.1 Problema general.....	14
1.2.2 Problema específico.....	14
1.3 Objetivos.....	14
1.3.1 Objetivo general.....	14
1.3.2 Objetivos específicos.....	15
1.4 Limitantes de la investigación.....	15
1.4.1 Limitante teórica.....	15
1.4.2 Limitante temporal.....	15
1.4.3 Limitante espacial.....	15
II. MARCO TEÓRICO.....	16
2.1 Antecedentes.....	16

2.1.1	Antecedentes internacionales.....	16
2.1.2	Antecedentes nacionales.....	20
2.2	Bases teóricas.....	21
2.2.1	Queratina.....	21
2.2.2	El cabello humano.....	27
2.2.3	Hidrólisis.....	35
2.2.4	Hidrólisis de proteínas.....	36
2.3	Conceptual.....	38
2.3.1	Residuos de cabello humano.....	38
2.3.2	Hidrólisis de queratinas.....	38
2.4	Definición de términos básicos.....	43
III.	HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	45
3.1.1	Hipótesis.....	45
3.2	Definición conceptual de variables.....	45
3.2.1	Operacionalización de variables.....	47
IV.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	49
4.1	Tipo y diseño de investigación.....	49
4.1.1	Tipo de investigación.....	49
4.1.2	Diseño de la investigación.....	49
4.1.3	Diseño experimental.....	50
4.2	Método de investigación.....	58



4.2.1	Método.....	58
4.2.2	Requerimientos.....	62
4.3	Población y muestra.....	63
4.3.1	Población.....	63
4.3.2	Muestra.....	63
4.4	Lugar de estudio y periodo desarrollado.....	64
4.5	Técnicas e instrumentos para recolección de la información.....	64
4.5.1	Técnicas para la recolección de información.....	64
4.5.2	Instrumentos de recolección de datos.....	66
4.6	Análisis y procesamiento de datos.....	66
4.6.1	Determinación del tipo de cabello.....	66
4.6.2	Determinación de curva patrón para determinar proteínas.....	67
V.	RESULTADOS.....	68
5.1	Resultados descriptivos.....	68
5.1.1	Selección de tipo de cabello.....	68
5.1.2	Selección del agente alcalino hidrolizante.....	70
5.1.3	Determinación de la concentración del agente alcalino hidrolizante.....	73
5.1.4	Determinación de la velocidad de agitación.....	76
5.1.5	Determinación de temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina.....	78
5.1.6	Determinación de parámetros óptimos de hidrólisis mixta.....	81
5.1.7	Rendimiento.....	88

5.2	Resultados inferenciales.....	88
5.2.1	Selección del agente alcalino hidrolizante.....	88
5.2.2	Determinación de la concentración del agente alcalino hidrolizante.....	89
5.2.3	Determinación de la velocidad de agitación.....	91
5.2.4	Determinación de temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina.....	92
5.2.5	Determinación de parámetros óptimos de hidrólisis mixta.....	93
VI.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	99
6.1	Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados.....	99
6.2	Contrastación de los resultados con otros estudios similares.....	100
6.3	Responsabilidad ética.....	104
	CONCLUSIONES.....	105
	RECOMENDACIONES.....	106
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	107
	ANEXOS.....	114
	Anexo 1- Matriz de consistencia.....	115
	Anexo 2 – Ficha técnica de residuos de cabello humano.....	117
	Anexo 3 – Curvas de calibración en análisis de espectrofotometría.....	118
	Anexo 4 – Curvas de normalidad.....	122
	Anexo 5 – Especificaciones y caracterización del hidrolizado de queratina....	127

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Interacciones intermoleculares e intramoleculares de queratinas.....	23
Figura 2 Estructura de la queratina .....	24
Figura 3 Asociaciones de heterodímeros en las queratinas.....	25
Figura 4 Estructura de la queratina del cabello .....	26
Figura 5 Sección longitudinal del folículo de un cabello .....	29
Figura 6 Zonas del folículo y desarrollo de queratina de corteza .....	32
Figura 7 Diagrama de la fibra de cabello humano.....	33
Figura 8 Mecanismo catalítico de proteasas .....	37
Figura 9 Proteasas y sus efectos en la descomposición de queratinas .....	43
Figura 10 Cabello lavado, seco y cortado .....	58
Figura 11 Acondicionamiento del medio hidrolizante .....	59
Figura 12 Filtración al vacío del hidrolizado de queratina .....	61
Figura 13 Determinación de proteínas por método de Lowry .....	62
Figura 14 Uso del DOE en el Software Minitab 19.....	66
Figura 15 Elaboración de la curva de calibración.....	67
Figura 16 Grafica de efectos principales según tipo de cabello y tipo de hidrolizante alcalino.....	69
Figura 17 Grafica de interacción según tipo de cabello y tipo de hidrolizante alcalino.....	69
Figura 18 Efectos principales según agente alcalino .....	72
Figura 19 Interacción según agente alcalino.....	72
Figura 20 Imagen de hidrolizados de queratina obtenidos para dos tipos de agentes alcalinos .....	73

Figura 21 Efectos principales de temperatura y concentración de hidrolisis alcalina.....	75
Figura 22 Interacción de temperatura y concentración de hidrolisis alcalina ...	75
Figura 23 Parámetro de mayor significancia en hidrolisis alcalina .....	76
Figura 24 Diagrama de cajas en la determinación de velocidad de agitación..	78
Figura 25 Efectos principales de temperatura y tiempos de hidrolisis alcalina	80
Figura 26 Interacción de temperatura y tiempos de hidrolisis alcalina .....	80
Figura 27 Determinación de tiempo de hidrolisis alcalina a 95°C .....	81
Figura 28 Efectos principales de temperatura y concentración en hidrolisis enzimática.....	83
Figura 29 Interacción de la temperatura y concentración en hidrolisis enzimática .....	83
Figura 30 Determinación del parámetro de mayor significancia de hidrólisis enzimática.....	84
Figura 31 Gráfica de contorno de parámetros óptimos de hidrólisis enzimática .....	84
Figura 32 Efectos de la temperatura de etapa alcalina y concentración proteasa para la hidrólisis mixta.....	86
Figura 33 Interacciones de parámetros en la hidrolisis mixta .....	87
Figura 34 Parámetro de mayor significancia en la hidrolisis mixta.....	87
Figura 35 Gráfica de contorno de la concentración de proteína para los factores temperatura y concentración de agente alcalino.....	91
Figura 36 Gráfica de contorno de la concentración de proteína para los factores temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina .....	93
Figura 37 Gráfica de contorno de la concentración de proteína para los factores concentración de proteasa y temperatura de hidrolisis enzimática.....	95
Figura 38 Gráfica de cubos (medias de los datos) de la concentración de proteína	

para los factores concentración de proteasa y temperatura de hidrolisis enzimática.....	96
Figura 39 Gráfica de contorno de la concentración de proteína para los factores temperatura en hidrólisis alcalina y la concentración de proteasa en hidrolisis enzimática.....	98
Figura 40 Probabilidad normal de datos en la prueba de selección de tipo de cabello.....	122
Figura 41 Probabilidad normal de datos en la prueba de selección de agente alcalino.....	122
Figura 42 Probabilidad normal de datos en la prueba de determinación de concentración de agente alcalino.....	123
Figura 43 Probabilidad normal de datos en la prueba de determinación de velocidad de agitación.....	123
Figura 44 Probabilidad normal de datos en la prueba de determinación de temperatura y tiempo de hidrolisis alcalina .....	124
Figura 45 Probabilidad normal de datos en la prueba de obtención de parámetros óptimos de hidrolisis mixta (primera etapa).....	124
Figura 46 Probabilidad normal de datos en la prueba de obtención de parámetros óptimos de hidrolisis mixta (segunda etapa) .....	125

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Composición de aminoácidos y proteínas queratinas .....	27
Tabla 2 Rangos de operación de proteasas industriales .....	41
Tabla 3 Operacionalización de variables .....	47
Tabla 4 Matriz del diseño experimental del tipo de cabello .....	51
Tabla 5 Matriz de diseño experimental del agente alcalino hidrolizante .....	52
Tabla 6 Matriz de diseño experimental de concentración ideal de hidróxido ...	53
Tabla 7 Matriz de diseño experimental de velocidad de agitación .....	54
Tabla 8 Matriz de diseño experimental de temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina .....	55
Tabla 9 Diseño experimental de concentración y temperatura de hidrólisis enzimática .....	56
Tabla 10 Optimización de parámetros de hidrólisis mixta .....	57
Tabla 11 Concentración de hidrolizado de queratina obtenida según en el tipo de cabello humano .....	68
Tabla 12 Resultados de selección de agente alcalino hidrolizante .....	71
Tabla 13 Resultados de temperatura de hidrólisis y concentración de agente alcalino .....	74
Tabla 14 Resultados de velocidad de agitación .....	77
Tabla 15 Resultado de temperatura y tiempo de hidrolisis alcalina .....	79
Tabla 16 Resultados temperatura y concentración de hidrolisis enzimática ....	82
Tabla 17 Resultados de optimización de la hidrolisis mixta .....	85
Tabla 18 Comparación de medias de la concentración de proteína (mg/ml) para cada tipo de agente alcalino, según prueba t-Student .....	89
Tabla 19 Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para los	

factores temperatura y concentración de agente alcalino, según prueba F .....	90
Tabla 20 Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para el factor velocidad de agitación, según prueba F.....	91
Tabla 21 Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para los factores temperatura y tiempo de hidrolisis alcalina, según prueba F.....	93
Tabla 22 Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para los factores concentración de proteasa y temperatura de hidrolisis enzimática, según prueba F.....	95
Tabla 23 Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para el factor temperatura de etapa alcalina y concentración de proteasa de etapa enzimática, según prueba F.....	97
Tabla 24 Comparación de parámetros usados por otros autores .....	103
Tabla 25 Curva de calibración para selección de tipo de cabello .....	118
Tabla 26 Curva de calibración para selección de agente alcalino hidrolizante .....	118
Tabla 27 Curva de calibración para determinar la concentración de agente alcalino.....	119
Tabla 28 Curva de calibración para determinar la velocidad de agitación .....	119
Tabla 29 Curva de calibración para determinar la temperatura y tiempo de hidrolisis alcalina.....	120
Tabla 30 Curva de calibración para determinar la temperatura y concentración de hidrolisis enzimática .....	120
Tabla 31 Curva de calibración para determinar la temperatura de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y concentración de proteasa de la hidrólisis mixta.....	121
Tabla 32 Características y especificaciones del hidrolizado de queratina.....	126

## RESUMEN

En la mayoría de las peluquerías los residuos de cabello humano generados no tienen utilidad alguna y son desechados a la basura. Este residuo orgánico es una fuente rica de queratina, ya que, según la bibliografía, el cabello contiene entre 80 y 90% de ésta. La queratina es la proteína encargada de brindarle las características al cabello, tales como: elasticidad, brillantez y fortaleza. La presente investigación tuvo como objetivo determinar las condiciones de hidrólisis para la obtención queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.

El método de obtención mediante una hidrólisis mixta consta de dos etapas: hidrólisis alcalina e hidrólisis enzimática. Se trabajaron varios diseños experimentales, tomando en cuenta variables como temperatura de hidrólisis, concentración de agente hidrolizante, velocidad de agitación y tiempo de hidrólisis, con el objetivo de optimizar el proceso. La cuantificación de la proteína obtenida en cada etapa de hidrólisis se realizó por el método de Lowry.

Se trabajó con una muestra de 2 gramos de cabello, el cual fue previamente lavado, secado y cortado en tamaño menor a 1 cm. Después de realizar el desarrollo de las pruebas de hidrolisis alcalina con solución de hidróxido de calcio se determinó que la temperatura optima fue de 95 °C, por un tiempo de 3 horas a una velocidad de agitación de 200 RPM y para la hidrolisis enzimática, las condiciones óptimas se dieron al añadir proteasa al 5% v/v para 5 horas y a una temperatura de 40 °C, estos parámetros óptimos de hidrólisis mixta nos permitieron obtener 12.11 mg/ml de concentración de hidrolizado de queratina, además de un rendimiento del proceso de 74%.

**PALABRAS CLAVE:** Cabello humano, hidrólisis alcalina, hidrólisis enzimática, hidrólisis mixta, queratina, proteína.



## **ABSTRACT**

In most hairdressing salons, the human hair waste generated is of no use whatsoever and is disposed of in the trash. This organic waste is a rich source of keratin, since, according to the bibliography, hair contains between 80 and 90% of it. Keratin is the protein responsible for giving hair characteristics such as elasticity, shine and strength. The objective of this research was to determine the hydrolysis conditions to obtain keratin from human hair residue generated in hairdressing salons.

The method of obtaining keratin by means of a mixed hydrolysis consists of two stages: alkaline hydrolysis and enzymatic hydrolysis. Several experimental designs were worked out, taking into account variables such as hydrolysis temperature, hydrolyzing agent concentration, agitation speed and hydrolysis time, in order to optimize the process. The quantification of the protein obtained in each hydrolysis stage was carried out by the Lowry method.

We worked with a sample of 2 grams of hair, which was previously washed, dried and cut in size less than 1 cm. After carrying out the development of the alkaline hydrolysis tests with calcium hydroxide solution, it was determined that the optimum temperature was 95 °C, for a time of 3 hours at an agitation speed of 200 RPM and for the enzymatic hydrolysis, the optimum conditions were given by adding protease at 5% v/v for 5 hours and at a temperature of 40 °C, these optimum parameters of mixed hydrolysis allowed us to obtain 12.11 mg/ml concentration of keratin hydrolysate, in addition to a process yield of 74%.

**KEY WORDS:** Human hair, alkaline hydrolysis, enzymatic hydrolysis, mixed hydrolysis, keratin, protein.

## INTRODUCCIÓN

La tasa de crecimiento poblacional aumenta exponencialmente, complicando más la contaminación por generación de residuos sólidos, parte importante de estos residuos son los orgánicos, dentro de estos se encuentra el cabello, el cual presenta degradación lenta a condiciones ambientales normales, es insoluble en agua y tiene características mecánicas muy interesantes.

El residuo de cabello es generado a diario en las ciudades, la mayoría de estos terminan dispuestos en rellenos sanitarios y en ocasiones son calcinados, por lo que resulta atractivo aprovecharlos. El cabello humano es una fuente rica en queratina, componente que representa más del 80% de su masa; la finalidad del presente trabajo es establecer las condiciones de tratamiento para la obtención de queratina. El método más usado en obtener queratina es la hidrólisis, proceso que consiste en romper los enlaces disulfuro que unen a los monómeros de queratina de otras proteínas.

El presente trabajo estableció las condiciones óptimas de la hidrólisis mixta de los residuos de cabello humano, obteniéndose queratina de alta concentración, capaz de competir en el mercado de la cosmética. Para su desarrollo se contó con el apoyo económico del programa Innóvate Perú del Ministerio de la Producción en convenio con la empresa Lacovat EIRLTDA – Universidad Nacional del Callao.

# **I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

## **1.1 Descripción de la realidad problemática**

El crecimiento de la población mundial incrementa las consecuencias generadas por las actividades humanas sobre el medio ambiente; las grandes ciudades evidencian mayores impactos debido a los residuos orgánicos e inorgánicos que se generan por el desarrollo de las actividades agrícolas, urbanas, industriales y otras. (Ávila et al., 2011).

En el Perú, esta situación se manifiesta en mayor medida en la provincia de Lima Metropolitana, ya que desde el 2012 al 2016, se presentó un aumento del 24% en la generación de residuos sólidos, según lo informado por el SINIA (2016). Si bien una fracción de los desperdicios de esta ciudad se disponen en rellenos sanitarios formales y adecuados, la mayor cantidad no cuentan con una adecuada gestión municipal para el manejo y disposición final. (Bustamante, 2014).

Entre los residuos más frecuentes, tenemos la generación de restos de cabello, material que posee lenta degradación natural y este proceso demora miles de años, esta característica genera contaminación en suelos y aguas, por otra parte, en los centros urbanos, las peluquerías o salones de belleza generan grandes volúmenes de cabello en sus actividades y la mayoría de estos establecimientos no cuenta con una adecuada segregación, del mismo modo, se carece de buena disposición de los residuos que generan. (Gupta, 2014).

Esta problemática se viene trabajando en otros países, un ejemplo es el trabajo de Jácome (2013), quien comenta que, si bien el cabello humano no es considerado un residuo peligroso, este material podría ser aprovechado para obtener productos de valor agregado. Países asiáticos también investigaron sobre el aprovechamiento de estos residuos, siendo pioneros en tecnología para su aprovechamiento.

A nivel mundial la industria agropecuaria, procesa fibras de alto contenido proteico como lanas y plumas, aprovechando las proteínas que estas contienen,

aplicando tecnologías desarrolladas hace varias décadas. Sin embargo, se cuenta con poco desarrollo industrial para recuperar las proteínas del cabello humano. Si bien existen experiencias de hidrólisis ácida y alcalina del cabello, la hidrólisis enzimática del cabello está poco estudiada.

En el Perú, no se cuenta con trabajos enfocados a aprovechar residuos de cabello para generar nuevos productos. En ese contexto, el presente trabajo desarrolló una metodología para obtener hidrolizado de queratina desde los residuos de cabello humano.

## **1.2 Formulación del problema**

### **1.2.1 Problema general**

¿Cuáles son las condiciones de hidrólisis para obtener queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías?

### **1.2.2 Problema específico**

¿Cuáles son las características del cabello humano generado en las peluquerías para el proceso de hidrólisis?

¿Cuáles son las mejores condiciones de hidrólisis alcalina para la obtención de queratina a partir de residuo de cabello humano generado en las peluquerías?

¿Cuáles son las condiciones de hidrólisis enzimática que incrementan la concentración de proteínas de los hidrolizados alcalinos, para obtener queratina a partir del residuo de cabello humano generado en peluquerías?

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo general**

Determinar las condiciones de hidrólisis para la obtención queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

Determinar las características del residuo de cabello humano generado en las peluquerías para el proceso de hidrólisis.

Determinar las mejores condiciones de hidrólisis alcalina para la obtención queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.

Determinar las condiciones de hidrólisis enzimática que incrementen la concentración de proteínas de los hidrolizados alcalinos, para la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.

## **1.4 Limitantes de la investigación**

### **1.4.1 Limitante teórica**

Se cuenta con pocas referencias e investigaciones para obtener hidrolizados, desde fuentes queratinosas similares al cabello. Por otro lado, existe escaso conocimiento sobre el proceso enzimático para descomponer la queratina, este aspecto impide desarrollar nuevos productos a la industria cosmética, según lo reportado por Navone & Speight (2020).

### **1.4.2 Limitante temporal**

El proceso de obtención de queratina a partir de residuos de cabello humano no presenta limitante temporal, ya que para la adquisición de la materia prima (residuos de cabello humano) cualquier temporada del año es adecuada para su recolección de las peluquerías.

### **1.4.3 Limitante espacial**

Las muestras de residuos de cabello para el presente trabajo se acopiaron de la peluquería Aramis Kids, ubicada en el distrito de San Miguel, Lima. Se sabe que, existen pocas peluquerías exclusivamente para niños en el Perú, esto representa una limitante para la recolección de la materia prima.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Antecedentes**

#### **2.1.1 Antecedentes internacionales**

Gupta (2014) en su artículo de investigación trazó como objetivo el estudio de la versatilidad del cabello humano, con un gran potencial en varias áreas críticas tales como agricultura, aplicaciones médicas, materiales de construcción, control de la contaminación, entre estas alternativas se destaca el proceso de hidrólisis. La metodología usada fue la recolección de literatura disponible a través de estudios de campo intensivos que involucraron a varios grupos destinatarios: peluqueros, recicladores, ONG, público en general e investigadores científicos. Este estudio ha demostrado que el cabello humano tiene un gran número de usos en áreas que van desde la agricultura hasta la medicina e industrias de ingeniería. Además, muchas áreas nuevas están siendo exploradas a través de la investigación científica. Con la ayuda de varias partes interesadas, es posible el desarrollo de sistemas completos de utilización del cabello humano, que reduciría la generación de residuos sólidos y los problemas ambientales, generaría importantes beneficios socioeconómicos para las personas y ayudaría a reducir la presión sobre otros materiales no renovables y combustibles fósiles.

Salazar (2013) en su trabajo de investigación se planteó como objetivo principal determinar el método adecuado de producción de queratina hidrosoluble, usando como materia prima las barbillas de las plumas de pollo y las condiciones necesarias para que el producto tenga características similares a las de una queratina cosmética comercial. Se aplicaron tres métodos diferentes de hidrólisis en la obtención de la queratina: método del sulfuro de sodio, método del etóxido de sodio y método del borohidruro de sodio, en dichos métodos se hidrolizaron barbillas de plumas con sulfuro de hidrógeno, etóxido de sodio y borohidruro de sodio, como agentes reductores. La queratina cosmética se obtuvo hidrolizando 5 gramos de las barbillas de las plumas con una solución acuosa de cada agente reductor, con una agitación constante de 24 horas, que fue filtrado al final para obtener la solución de queratina. Por las ventajas encontradas se concluyó que

el primer método era el más adecuado. Con los resultados puede establecerse que la queratina obtenida por el método del sulfuro de sodio tiene la apariencia (amarillo opaco) y el contenido de sólidos (75%) similares a los valores de la queratina de referencia (cosmética comercial).

Por su parte, Benítez et al. (2008), presenta como materia de estudio la tendencia actual en las técnicas empleadas para la obtención de hidrolizados mediante enzimas y sus aplicaciones. Esto se realizó a través de la recolección de información sobre el proceso de hidrólisis de varias fuentes, tales como artículos científicos y libros sobre bioquímica. Como conclusión se afirma que la hidrólisis enzimática de proteínas, por acción de enzimas proteolíticas, y por tanto, el uso de los hidrolizados dependerá principalmente de la fuente proteica, del tipo de proteasa usada, de las condiciones de hidrólisis y del grado de hidrólisis alcanzado en la reacción. Los hidrolizados son muy utilizados en la tecnología alimentaria por sus propiedades nutricionales y funcionales (solubilidad, poder emulsificante, capacidad espumante).

Se tiene también a Suárez (2017), el objetivo de su trabajo fue la obtención de un hidrolizado de queratina a través de la hidrólisis alcalina (sulfuro de sodio y peróxido de hidrógeno) de residuos de cabello humano, procedentes de salones de belleza y el uso del mismo en la formulación de un acondicionador. Se inició con el pretratamiento de la materia prima mediante lavado, secado y reducción de tamaño a 1 cm. Luego se realizó el proceso de hidrólisis a una temperatura constante de 40 °C durante cuatro horas, utilizando sulfuro de sodio. Se evaluó la concentración de proteína del hidrolizado en función de las variables, concentración de sulfuro de sodio: 0,1M, 0,3 M y 0,5 M y volumen de peróxido de hidrógeno al 30%: 1,2,5 y 4 mL. Se determinaron las condiciones óptimas del proceso, las cuales fueron: 0,45 M de sulfuro de sodio y 3,08 mL de peróxido de hidrógeno. El hidrolizado de queratina obtenido tuvo una concentración de proteína de 7,53 mg/mL. La caracterización física y microbiológica del hidrolizado de queratina determinó que cumplió con las especificaciones técnicas de una queratina comercial, y se usó como aditivo cosmético en la formulación de un acondicionador.

Por otro lado, Villa et al. (2013), en su artículo de investigación plantearon como objetivo la obtención de queratina a partir de la hidrólisis enzimática de plumas y probó su efecto en la fibra capilar de cabello humano. La queratina se obtuvo por hidrólisis enzimática de queratinasas usando *Bacillus subtilis*. Los microorganismos se cultivaron en un medio de plumas a un pH de 8, acondicionado con extracto de levadura, durante 5 días a 28 °C con agitación. Después de cinco días las plumas habían sido degradadas (90-95%) por las peptidasas y queratinasas del microorganismo. El sobrenadante que contenía los hidrolizados fue recolectado por centrifugación y ultrafiltración. Con las técnicas analíticas de espectrometría de masas y HPTLC, se identificaron y cuantificaron los componentes del hidrolizado de queratina obtenido, el cual fue comparado con la composición de una queratina comercial. Finalmente se formuló un champú y acondicionador con el hidrolizado enzimático obtenido y fue aplicado a las fibras capilares para evaluar su efecto en ellas. El hidrolizado enzimático tuvo una concentración de proteínas de 3,5 mg/ml, después de la filtración el contenido de proteína fue de 1,5 mg/ml, correspondiente a un porcentaje de 42,8% relativo a la proteína total. Los resultados demuestran, además, que el método enzimático usado produce péptidos de queratina de bajo peso molecular (<1,000 Daltons), lo que determinó su efectividad en la protección y cuidado eficientes para las fibras capilares, siendo además un método atractivo y ecológico con un gran potencial en la industria cosmética.

Del mismo modo, en el trabajo de tesis realizado por Pardo & Rogel (2015) plantearon como objetivo principal aprovechar la proteína presente en la harina de plumas de pollos, mediante la hidrólisis enzimática utilizando el *Bacillus subtilis* para la obtención de queratina, con el fin de elaborar una crema alisante de cabello que supere las cualidades de una crema alisante comercial. Se realizó un diseño experimental en el cual se varió la concentración de *Bacillus subtilis* (2, 3 y 4 g/L) y la del sustrato (8, 12 y 16%). Este proceso de hidrólisis se realizó en un fermentador aerobio tipo batch a temperatura de 25 °C, se ajustó el pH a 7,5. En la elaboración de la crema alisante se varió la concentración del hidrolizado (47, 60 y 73%). Mediante espectrofotometría UV-Visible se determinó el contenido de nitrógeno, lográndose obtener un 3,28% queratina en el



hidrolizado, el cual al ser desodorizado se concentró hasta un 10%, el cual presenta una concentración recomendable para el proceso de elaboración de la crema alisante, la cual supera a la crema alisante comercial en un 20% en aumento del efecto alisante (reducción del efecto friz) y tiempo de duración de dicho efecto.

Adicional a eso, los trabajos de Krejci et al. (2011) y Mokrejs et al. (2011), proponen como objetivo usar métodos combinados de hidrólisis alcalina y enzimática para descomponer lana de oveja. La queratina hidrolizada fue obtenida a través de dos etapas: primero hidrolizaron la lana de oveja con una solución de hidróxido de calcio, posteriormente ajustaron el pH. Para la segunda etapa de hidrólisis añadieron una enzima proteolítica y dejaron actuar durante 24 horas. Finalmente aplicaron filtración y centrifugación con el fin de separar la queratina hidrolizada de los residuos sólidos. Los mejores resultados de rendimiento del proceso se dieron en la corrida que tuvo una concentración de hidróxido de calcio del 0,6%, temperatura del primer paso de 80 °C y temperatura en el segundo paso de 60 °C; donde se obtuvo una degradación de la lana de oveja del 60%. También se realizaron análisis de electroforesis para conocer los pesos moleculares de la queratina hidrolizada, concluyendo así que esta queratina puede utilizarse en la industria.

Por su parte, Lázaro (2018), en su investigación trazó como objetivo evaluar la capacidad de degradación de residuos agrícolas de bacterias celulolíticas y xilanolíticas termotolerantes del Callejón de Huaylas, como potencial de usar una tecnología limpia. Para el proceso de hidrólisis enzimática se usaron las bacterias: *Bacillus subtilis DCH4* y *Conhella laeviribosi EHB4*. Se encontró que ambas bacterias degradan los residuos agrícolas, los extractos enzimáticos de *B. subtilis DCH4* cultivado por 16 horas y *C. laeviribosi EHB4* cultivado por 72 horas fueron seleccionados por presentar las mayores actividades endoglucanasa y xilanasas. Reporta el uso de ambas bacterias para desintegrar productos agrícolas, liberando hasta 44% de azúcares reductores en 72 horas. Finalmente, los resultados demuestran *Bacillus subtilis DCH4* y *Conhella laeviribosi EHB4* tienen capacidad de degradar los residuos agrícolas tanto en

cultivo o cuando se usan sólo sus enzimas.

### **2.1.2 Antecedentes nacionales**

El trabajo de Vega (2014), propone como objetivo aprovechar el residuo queratinoso procedente del pelambre enzimático mediante hidrólisis alcalina con hidróxido de calcio. La metodología usada constó de la preparación del pelambre enzimático, del cual se obtuvo el residuo queratinoso, que luego fue hidrolizado con hidróxido de sodio a tres concentraciones distintas (0.20 - 0.35 y 0.50 g  $\text{Ca(OH)}_2/\text{g}$  residuo queratinoso) y tres temperaturas (50 – 70 – 90 °C). Se determinó la concentración de nitrógeno total obtenida con el método Kjeldahl. Se reportó haber obtenido mayor conversión a nitrógeno (50%) cuando se usó con hidróxido de calcio a mayor concentración y temperatura a los residuos queratinosos, concluyendo que es posible obtener péptidos y aminoácidos en estado líquido, mediante este tipo de hidrólisis. El líquido hidrolizado a 90°C presentó 17815.81 mg/L de proteína total. A partir del producto líquido hidrolizado se evaluó el efecto en el crecimiento de plántulas de maíz debido a su importante aporte de aminoácidos libres, obteniendo un mejor efecto a una concentración de 12% comparando con las otras concentraciones del líquido hidrolizado

En la investigación de Gonzales (2016) se planteó como objetivo determinar si la concentración de hidróxido de sodio y temperatura influían en la extracción de alfa queratina a partir del residuo de pelo de la empresa INVERSIONES HAROLD S.A.C. Se manejaron cuatro concentraciones de hidróxido de sodio que estuvieron entre 0.1 N y 0.4 N, y se trabajó también cuatro temperaturas sus rangos variaron entre 60 y 90 °C. Se mantuvo fijo el tiempo de reacción, el cual fue de tres horas y media, se tuvo como muestra a 5 gramos de residuo de pelo. Concluyeron que a 0.1 N de hidróxido de sodio y a una temperatura de 70 °C se obtuvo una mayor extracción de alfa queratina la cual fue de 54.33 % aproximadamente.

Las tesis de Coba & Rodriguez (2018) y Chuquimango (2019) plantearon como objetivo principal la determinación del efecto de la concentración del hidróxido

de calcio en la obtención de queratina de pelo vacuno de la curtiembre Ecológica del Norte E.I.R.L. Se manejaron tres concentraciones de hidróxido de calcio: 0.1, 0.2 y 0.3 N; y un peso de pelo de ganado vacuno establecido 0.5 gramos, el diseño experimental fue unifactorial con 3 repeticiones, sumando un total de 9 experimentos. Se mantuvo constante el tiempo durante 6 horas, una temperatura de 70 °C y una velocidad constante de 400 RPM; determinaron que la mejor concentración de hidróxido de calcio es a 0.3 N con un peso de 0.5 gramos de residuo de pelo vacuno a una temperatura de 70 °C, 6 horas de reacción y una velocidad de agitación de 400 RPM. De esta manera consigue un porcentaje de obtención de queratina de 28.33% y 27.33% respectivamente.

El trabajo de investigación de Benites (2020), se trazó determinar la influencia del hidróxido de calcio en la obtención de queratina de pelo del ganado vacuno extraído de la curtiembre, mientras que la metodología ha sido de tipo básica, con un diseño experimental, en el que se han considerado 9 muestras experimentales. Se usaron los siguientes pesos del pelo vacuno: 0.50, 1.00 y 1.50 gramos, en concentraciones de 0.10, 0.20 y 0.30 N, de hidróxido de calcio, contando con una temperatura de 70°C. Finalmente, concluyó que la óptima concentración de hidróxido de calcio es de 0.3 N trabajando con 0.5 gramos de pelo vacuno de la Curtiembre Chimu Hnos Murgia SAC, manteniendo constantes una temperatura de 70 °C, una velocidad de agitación de 400 RPM y 6 horas de hidrólisis, siendo el máximo porcentaje obtenido de queratina hidrolizada un 25.67%.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Queratina**

Es una proteína fibrosa rica en azufre, la cual es producida por queratinización, proceso donde muchas células dermales (epiteliales) mueren y se acumulan en capas. De este modo, el término queratina se refiere a las proteínas que forman filamentos intermedios que son producidas en cualquier epitelio vertebrado. (Bragulla & Homberger, 2009).

La principal característica de las queratinas es su alto valor de tenacidad cuando se les compara con otros biomateriales. (Cruz et al., 2017). Por ejemplo, la resistencia a la tracción que tiene la lana, ronda entre los 200 – 600 MPa, produciendo resistencias de tracción específicas que están en el rango de 150 - 200 MPa/Mgm<sup>-3</sup>, valores comparables con el acero inoxidable (~250 MPa MPa/Mgm<sup>-3</sup>). (Yu et al., 2017).

Según el trabajo de Sierra et al. (2019), las queratinas tienen pesos moleculares con valores entre los 35 kDa y 50 kDa, resultados que confirman lo indicado por Chavez y Tenorio (2018), quienes mostraron valores entre 40 kDa y 70 kDa para el peso molecular de las queratinas, autores citados por Sierra et al. (2019). Diversas investigaciones asumen que cuando las moléculas de queratina se rompen, los pesos moleculares disminuyen significativamente por los hidrolizados formados.

**A) Tipos de queratina.** Dependiendo de la estructura molecular pueden ser  $\alpha$ - o  $\beta$ - queratina. La  $\alpha$ -queratina es encontrada generalmente en la piel, pelo y uñas de mamíferos. Las mayores diferencias entre estos dos tipos de queratina son los filamentos intermedios que forman. (Meyers et al., 2008). La  $\beta$ -queratina forma microfibrillas en forma de hoja plegada y su diámetro es menor que de la  $\alpha$ -queratina, mientras que las microfibrillas de esta última consisten en plegamientos de hélices. (Meyers et al., 2008).

La  $\beta$ -queratina forma parte de aves y reptiles, específicamente en sus escamas, plumas y picos. Por otro lado, las  $\alpha$ -queratinas pueden dividirse en dos tipos:  $\alpha$ -queratinas suave y dura. Las primeras se caracterizan por ser fibrosas y son parte de la epidermis, así como de otros tejidos epiteliales. (Marshall et al., 1991) Las segundas son derivadas de células epiteliales, en este tipo de queratinas, la dureza y la durabilidad son muy características, por ello se constituyen en el cabello, uñas, plumas y cuernos (Coulombe & Omary, 2002).

Se puede diferenciar dos tipos de fibras de queratina, las de tipo I son las que generan aminoácidos ácidos (queratinas ácidas), mientras las de tipo II producen aminoácidos básicos (queratinas básicas o neutras), estos tipos de queratinas

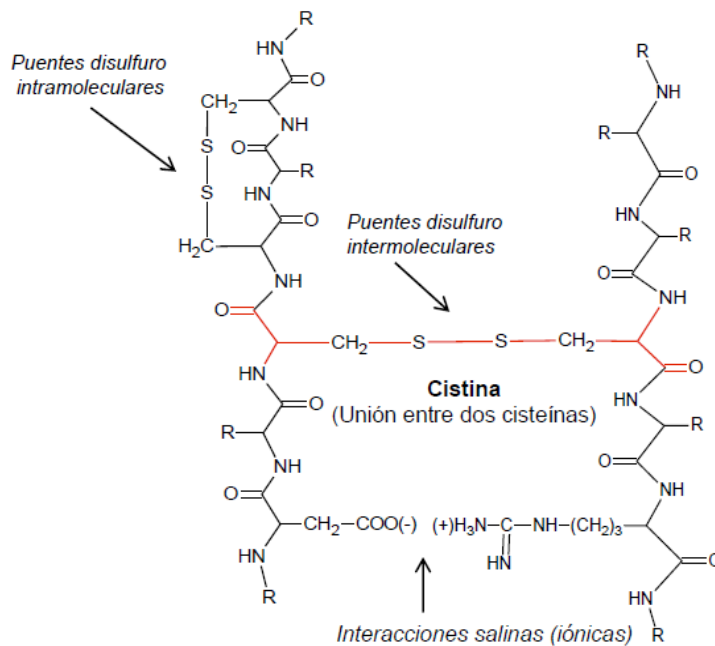
fueron encontradas en los filamentos intermedios, según indican en sus trabajos Yang et al. (2014) y Rogers et al. (2006).

**B) Queratina del cabello humano.** La queratina está formada por agrupación de  $\alpha$ -aminoácidos mediante largas cadenas de enlaces peptídicos unidos lateralmente por enlaces covalentes de las cistinas, son estas uniones las que proporcionan la dureza característica de la queratina. También existen interacciones salinas iónicas debido a las cargas polares presentes en sus cadenas laterales, como se aprecia en la figura 1. Por otro lado, existen uniones por enlaces puente de hidrógeno de los grupos peptídicos situados estratégicamente.

El cabello humano está compuesto por  $\alpha$ -queratinas duras. Diversos autores identifican tres características de las  $\alpha$ -queratinas en el cabello: sus microfibrillas son alineadas y están rodeadas por una matriz no filamentosa de asociación de proteínas, los filamentos intermedios.

**Figura 1**

*Interacciones intermoleculares e intramoleculares de queratinas*



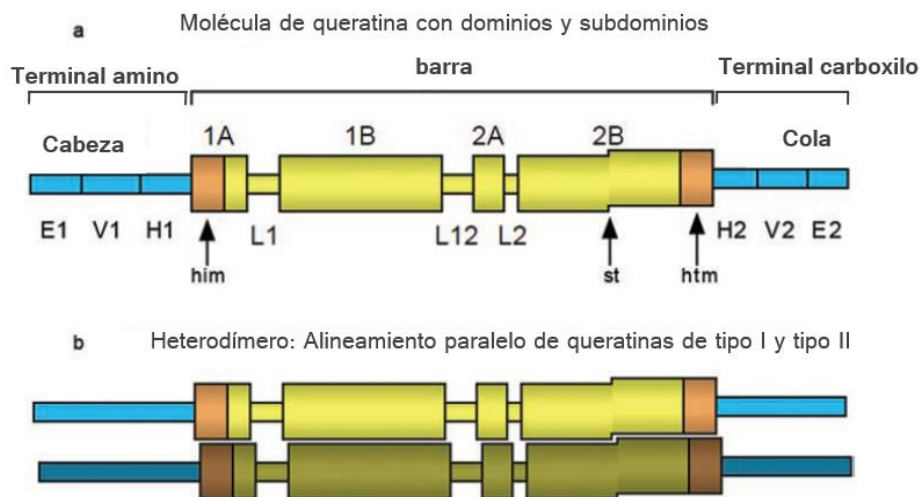
Fuente: Fernández-D'arlas et al. (2016).

Las uniones disulfuro otorga a este tipo de queratinas duras la característica de ser solubles sólo por solventes convencionales en condiciones de pH extremo, así como cuando son atacados por agentes oxidantes y reductores. (Gillespie, 1990).

Las queratinas duras están conformadas en su parte central por cuatro series de subdominios de aminoácidos  $\alpha$ -helicoidales (dominios de barra), denominadas regiones 1A, 1B, 2A y 2B, por otra parte, estas regiones presentan tres regiones enlazadoras, pero no son helicoidales, los cuales son llamados L1, L1/2 y L2. (Rogers et al., 2006). El dominio principal de la molécula de queratina es el extremo terminal amino (cabeza). Esta parte consta de un subdominio final (E1), un subdominio variable (V1) en medio y el subdominio homólogo (H1). El tercer dominio denominado terminal carboxilo (cola), consta de tres subdominios (H2, V2, E2) son similares al del dominio principal (ver, figura 2a).

## Figura 2

### Estructura de la queratina



Fuente: Adaptado de Bragulla & Homberger (2009).

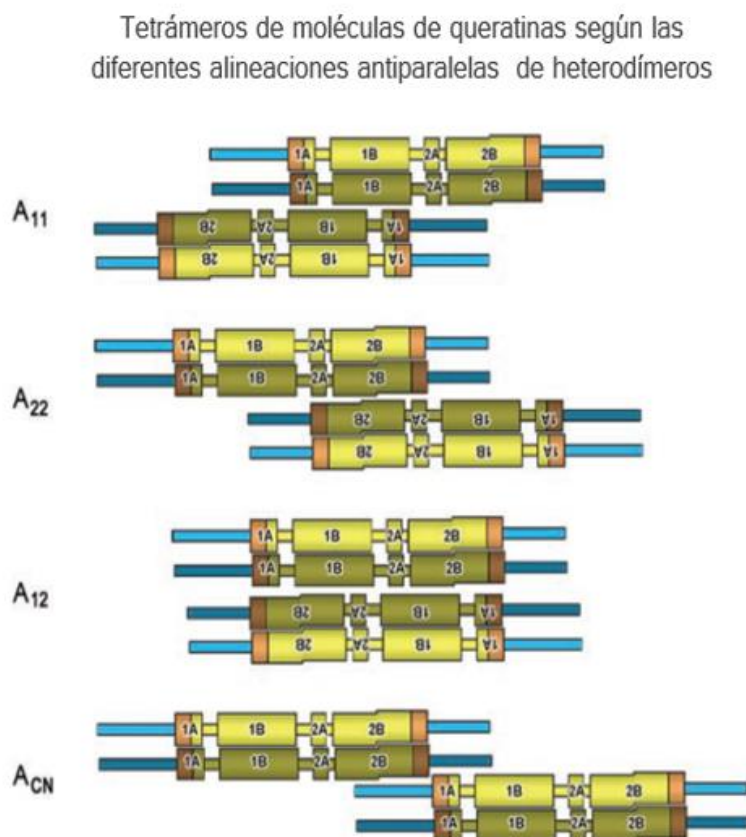
Además de ello, Bragulla & Homberger (2009), después de realizar un análisis por difracción de rayos X a queratinas duras, identificaron zonas adicionales que permiten explicar la formación de filamentos. La parte más próxima del subdominio 1A al extremo de la barra junto al terminal amino, la denominan

motivo de iniciación de la hélice (him, por sus siglas en inglés) y la parte del subdominio 2B más pegada al dominio de terminal carboxilo, la denominaron motivo de finalización de la hélice (htm, por sus siglas en inglés). También identificaron que el subdominio 2B tiende a entrecortarse en el punto (st), según se aprecia en la figura 2a.

Cuando una molécula de queratina ácida (tipo I) y una básica (tipo II) se alinean paralelamente, forman un heterodímero, según se muestra en la figura 2b. Dos heterodímeros se pueden asociar para formar tetrámeros, pudiendo tener alineación antiparalela y escalonada (A11, A22, A12) o alineación de extremos (ACN). Estas asociaciones se presentan en la figura 3.

### Figura 3

#### *Asociaciones de heterodímeros en las queratinas*



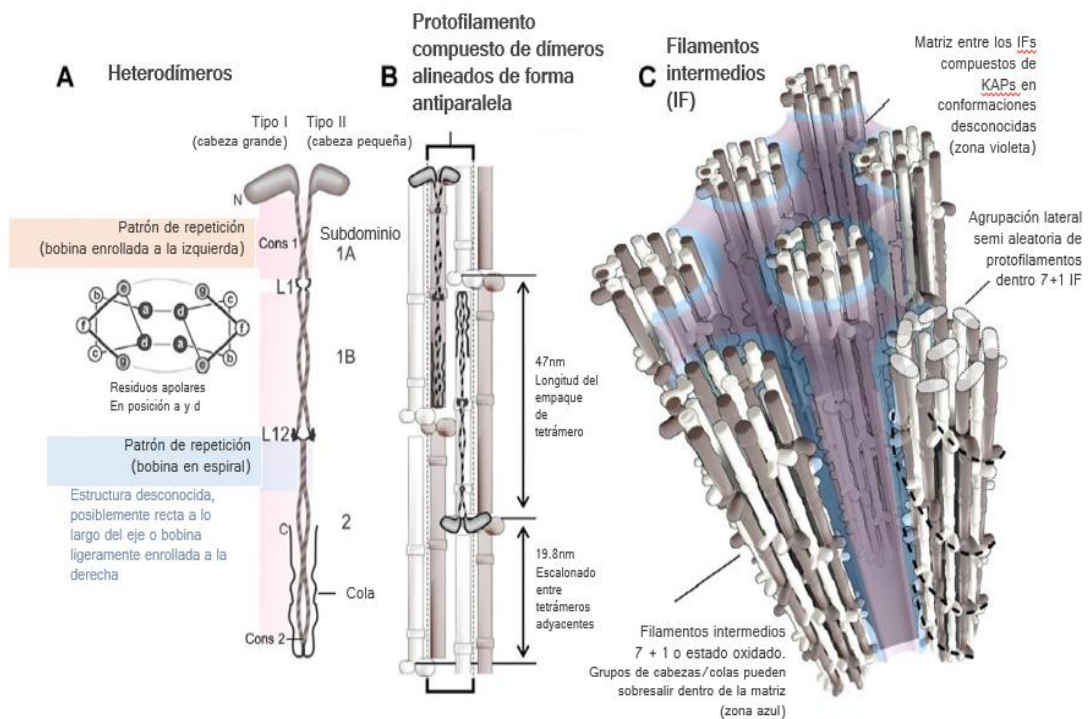
Fuente: Adaptado de Bragulla & Homberger (2009).

En base a esta teoría de agrupación de moléculas de queratina mencionadas líneas arriba, actualmente se tiene clara la idea de formación de los cabellos a partir de las agrupaciones de queratina.

En la figura 4, se muestra la estructura de la queratina que constituye el cabello, en la forma que se comprende actualmente. En la parte A, las queratinas ácidas y básicas conforman varillas cuando se enrollan entre sí. Las zonas enlazadoras interrumpen el enrollado de moléculas, mientras que los segmentos de cabeza y cola al quedar libres tienen la posibilidad de generar ensamblajes con filamentos intermedios estables. La sección B muestra la formación de tetrámeros, cuando grupos de dímeros antiparalelos se apilan longitudinalmente. La parte C detalla las posibilidades que tienen los filamentos intermedios para interactuar con las varillas de tetrámeros. (Kadir et al., 2017).

**Figura 4**

*Estructura de la queratina del cabello*



Fuente: Adaptado de Kadir et al. (2017).



C) **Composición de la  $\alpha$ -queratinas.** La queratina del cabello, como otros tipos de queratinas, están conformadas por una gran cantidad de aminoácidos. Las diferencias de esa composición de aminoácidos otorgan las características particulares a la queratina de diferentes materiales.

**Tabla 1**

*Composición de aminoácidos y proteínas queratinas*

Componente	Cuernos de rinoceronte	Cabello humano	Plumas de puerco espín	Garras de gato domestico
Lisina	4.2	2.7	3.0	2.0
Histidina	1.0	0.9	0.8	1.0
Arginina	7.4	5.8	6.8	6.7
Ácido aspártico	8.5	4.9	7.6	5.3
Treonina	5.0	6.8	5.0	5.4
Serina	8.5	11.7	8.6	9.2
Ácido glutámico	16.2	11.4	12.7	8.8
Prolina	4.8	8.4	7.3	7.2
Glicina	7.1	6.4	9.6	15.1
Alanina	7.5	4.6	6.6	3.8
Cistina	4.6	17.8	7.6	15.4
Valina	5.6	5.8	5.3	3.7
Metionina	0.7	0.6	0.3	0.7
Isoleucina	4.0	2.7	2.9	2.0
Leucina	9.3	5.8	8.3	5.3
Tirosina	2.9	2.0	4.7	6.4
Fenilalanina	2.8	1.6	2.9	2.1
Proteína de alto azufre	6	39	14	29
Total, IFAP (g/100g)	7	40	29	53

Fuente: Adaptado de Gillespie (1990).

En la tabla 1, se muestra la comparación de la composición de queratinas de varios materiales.

### 2.2.2 El cabello humano

El ser humano por ser parte de la especie de mamíferos presenta cabello. Según indica Buffoli et al. (2014), la principal función del cabello es la protección del cuero cabelludo, piel y ojos; por esta razón, los mamíferos presentan casi todas las superficies corporales cubiertas de cabello. El cabello permite regular la

temperatura corporal, de manera que, cuando el ambiente es frío, el cabello se contrae atrapando el aire caliente entre sus cavidades; cuando hace calor, el cabello se estira por el relajamiento muscular, de esta manera la piel se refrigera. (Brunswick, 2012).

El cabello es una estructura ubicada en el folículo piloso, el cual es parte de la epidermis, debido a esto, muchos autores consideran al cabello como una continuación de la piel, solo con el detalle de ser una estructura más rígida. En cuanto a sus dimensiones, los diámetros de las fibras de cabello varían entre 40 y 50  $\mu\text{m}$ . (Gupta, 2014)

**A) Estructura del cabello.** Dos partes de gran importancia son reconocidas en el cabello, el folículo y el tallo. La raíz está ubicada en el folículo piloso, mientras que el tallo se proyecta o se desarrolla hacia arriba, por encima de la superficie de la epidermis. (Randall & Botchkareva, 2009).

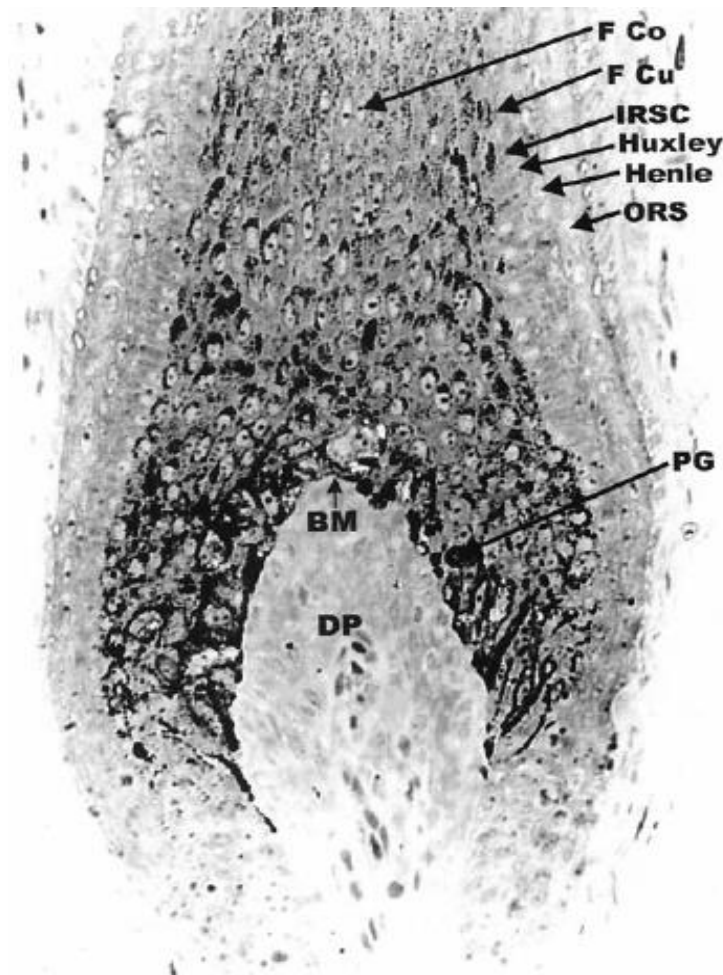
**A.1. El folículo.** Es una estructura en forma de gota, ubicada en la piel. Desde el punto de vista anatómico, el folículo puede ser dividido en tres compartimientos: el infundíbulo, el istmo y el segmento inferior. Según lo indicado por Randall & Botchkareva (2009), la parte superior es permanente, es decir es una zona fija, mientras que la parte baja es la que se regenera con cada ciclo del folículo. La parte inferior del folículo está conformada por la bulba del cabello, región que se caracteriza por la abundante proliferación de queratinocitos y melanocitos productores de pigmento.

Al final del folículo está ubicada la membrana basal (BM), esta membrana promueve el desarrollo de células epiteliales que pasarán a la región denominada fibra capilar de la corteza (FCo), capa Huxley y capa Henle. (Jones, 2001). Al fondo del folículo también está ubicada la papila dérmica (DP), conocida como zona capilar, que está compuesta de redes de vasos sanguíneos, los que suministran nutrientes para el crecimiento del cabello. Según se muestra en la figura 5, las zonas más oscuras son las regiones ocupadas por gránulos de pigmentos (PG), las cuales son acumulaciones de porciones de melanina que los melanocitos generan en su movimiento, que después transfieren a las células epiteliales de la región FCo. (Jones, 2001).

A la papila la rodea una glándula sebácea, estructura en forma de bombilla, esta glándula lubrica el cabello con segregación de aceite, además, a esta sección se la relaciona con el músculo erector que hace que el cabello se mantenga en posición vertical. Según el trabajo de Brunswick (2012), existen células nerviosas ubicadas alrededor del folículo, de manera que estimulan al músculo erector (contracción o relajación) según las condiciones ambientales de donde se encuentren.

### Figura 5

*Sección longitudinal del folículo de un cabello*



*Fuente: Jones (2001).*

En cuanto a las características del folículo, la principal es su comportamiento cíclico, según informa en su trabajo Johnstone & Albert (2002). De esta forma, los autores indican que el folículo es la parte del cabello, que se mantiene activo

durante la vida del individuo (mamífero) mediante los ciclos de proliferación (anágena), ciclo de regresión (catágena) y ciclo de quiescencia (telógena). Por ejemplo, el folículo de un ciclo anágeno maduro se ve como una serie de vainas concéntricas en forma de varillas, siendo la vaina más externa, la vaina de la raíz externa de varias capas, denominada ORS por sus siglas en inglés. (Rogers et al., 2006). También en el folículo se forma la vaina de raíz interna de la cutícula denominada IRSC.

**A.2. El tallo.** La formación del tallo inicia en la bulba del cabello, en esta región la gran cantidad de queratinocitos y melanocitos rodean a la papila dérmica, y es gracias a que los queratinocitos tienen un movimiento ascendente, que estos se diferencian y van cambiando sus características físicas al llegar al tallo del cabello. Durante este movimiento ascendente, los melanocitos transfieren su pigmento hacia los queratinocitos, esta coloración originada por la presencia de melanina en los melanocitos después quedará junto a la queratina, conformando y dando el color a la matriz y corteza del cabello.

Existe una zona pre queratógene donde las células del tallo del cabello producen queratinas específicas. (Randall & Botchkareva, 2009). En esta región se producen las diferencias entre las células de la matriz y las fibras corticales del tallo del cabello, las cuales se mueven hacia arriba. Esta región pre queratógene comprime y moldea en su forma final al tallo del cabello mediante la acción de la vaina de la raíz interna (IRS). De este modo la IRS determina el grosor y curvatura del cabello, pues las regiones internas que conforman el tallo se subdividen aquí: la cutícula es adyacente a la cutícula de la IRS, la que a su vez es adyacente a la corteza, en el centro de esta fibra está la médula.

La corteza está formada principalmente por fibra de queratina, por esta razón la proteína está en mayor cantidad en el tallo del cabello, brindándole fortaleza y flexibilidad. Se puede clasificar al tallo en tres capas: la médula, la corteza y la cutícula.

**A.2.1 Médula.** Es la parte central del tallo del cabello, se sabe que esta zona nutre y mantiene la humedad; algunos estudios informan que cabellos finos

pueden no presentar médula, lo que significa que su presencia no es significativa y su ausencia no alteraría las propiedades del cabello. Esta parte del tallo se caracteriza por su concentración rica en ácido glutámico y citrulina, este último insoluble para reactivos que separan enlaces disulfuro. (Marshall et al., 1991).

**A.2.1 Corteza.** Se encuentra entre la cutícula y la médula, es el componente principal de las fibras de los mamíferos y es la que determina la mayoría de las propiedades mecánicas como elasticidad y fuerza del cabello. La corteza es la parte que ocupa mayor superficie capilar de las fibras, para el caso del ser humano es la parte más grande, llegando a ocupar hasta un 70% del volumen del cabello. La corteza también contiene la mayoría de los gránulos de pigmento, la melanina. (Brunswick, 2012).

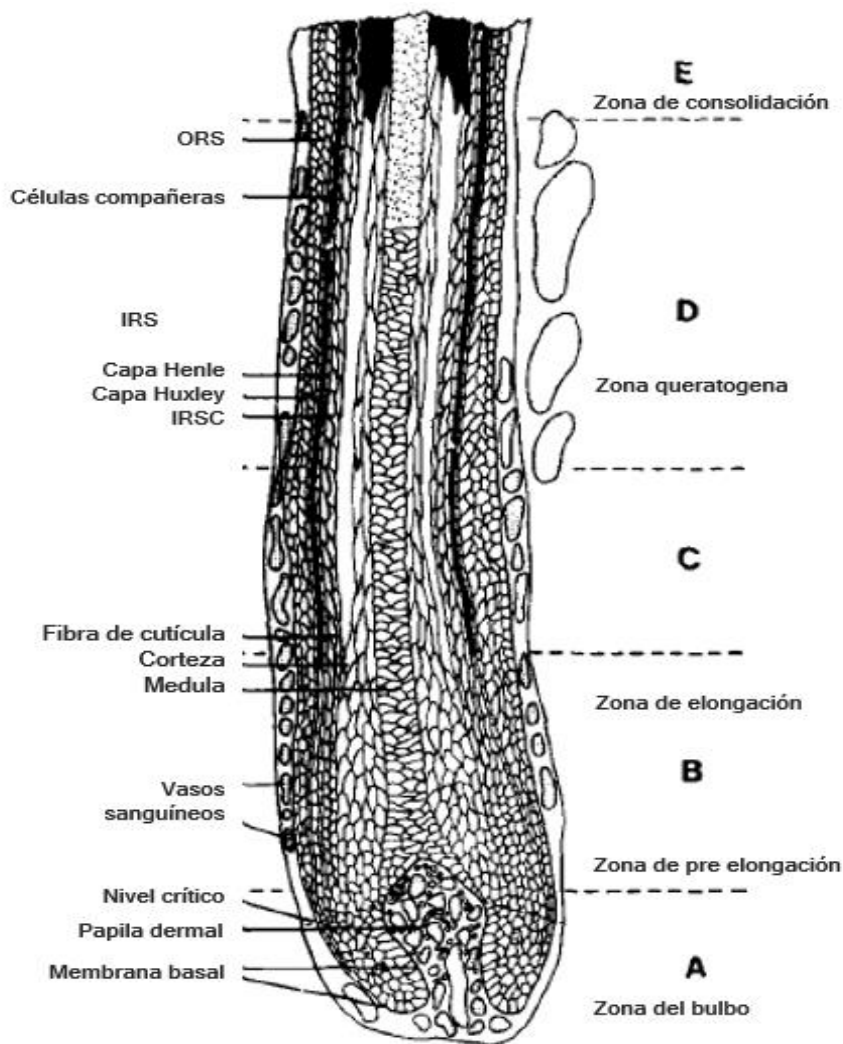
Según informa Yu et al. (2017), la corteza “consta de células fusiformes poliédricas largas”, en cada célula se encuentran macrofibrillas con diámetros entre 0.1 – 0.4 $\mu$ m, dentro de estas estructuras se acomodan las microfibrillas. Por otro lado, estructuras denominadas filamentos intermedios duros de  $\alpha$ -queratina (KIF por sus siglas en inglés) las cuales son interacciones de queratinas y lípidos en una masa de azufre, conforman las microfibrillas, los KIFs tienen diámetros promedio de 7.5nm. Los filamentos intermedios contienen proteínas de bajo azufre, debido a la poca cantidad de cistina, mientras que la matriz contiene proteínas de alto azufre por la gran cantidad de cistina, tirosina y glucina. (Gillespie, 1990).

La corteza se forma por el desarrollo de la queratina dentro de las células corticales a lo largo de las zonas B, C y D (ver figura 6). En la zona B las células aumentan su volumen; conforme se forman los KIFs, en la zona C las células se alargan por interacciones laterales. Según informaron Forslind & Swanbeck, (1966), citado por Marshall et al. (1991), existe un aumento del número de generación de queratina en las zonas C y D, los que producen incremento de tamaño de los KIF, los cuales ahora se denominan microfibrillas. En la zona D, las células adquieren la disposición de matriz unidos a filamentos intermedios, a causa de la maduración de estas células, según indica Chapman y Gemmell

(1971), citado por Marshall et al. (1991, p. 62). En la zona E, culmina la síntesis de queratina, debido a que la fibra pierde agua y se produce una gran contracción de volumen, por estos cambios producidos en la región E, se le denomina la zona de queratinización.

### Figura 6

*Zonas del folículo y desarrollo de queratina de corteza*



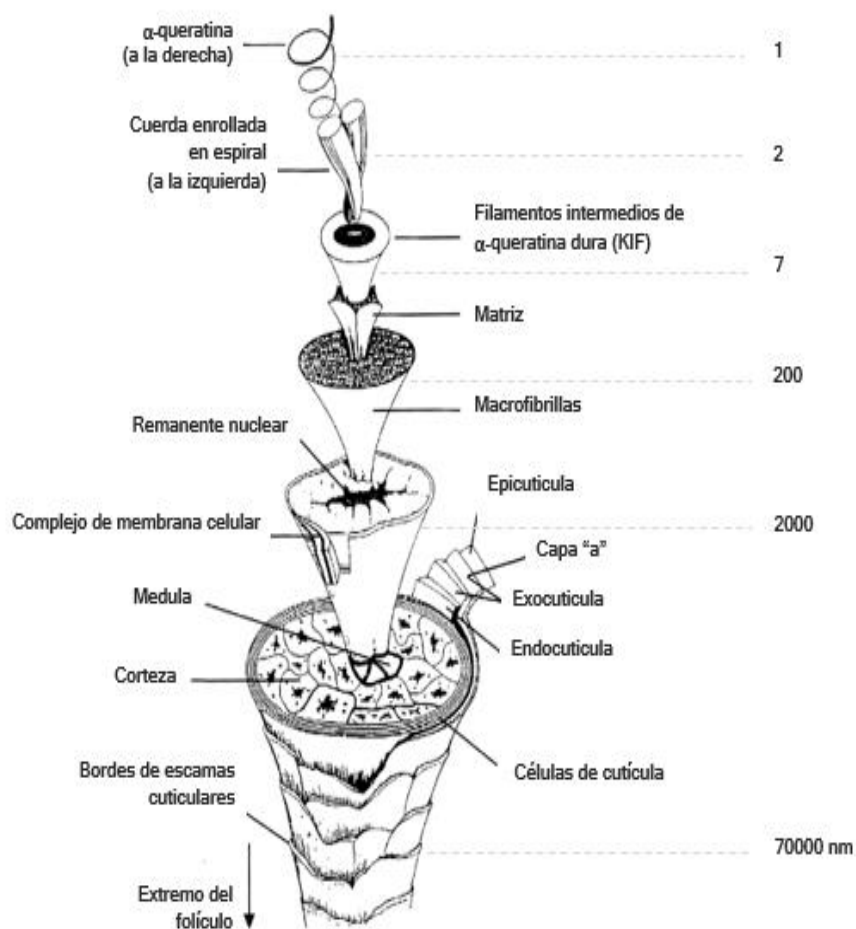
*Fuente:* Adaptado de Marshall et al. (1991).

**A.2.3 Cutícula.** Es la capa más externa del cabello y su principal función es proporcionar protección al cabello, debido a la porosidad que presenta ayuda a la regulación del agua que entra y sale, de modo que muchos procesos externos pueden afectarla. Por esta razón, las cutículas con baja porosidad evidencian

fuerzas unidas entre sus componentes; por otro lado, cuando presentan alta porosidad las cutículas están debilitadas, provocando así ingresos o salidas de mucha humedad. La estructura de la cutícula está formada por células planas ordenadas en forma de “entejado” apuntando hacia la punta del cabello. (Jones, 2001). La parte más externa de esta zona del cabello está formada por capas de células muertas, conocidas como escamas cuticulares, dispuestas desde la raíz hasta la punta de los cabellos según indica Buffoli et al. (2014), estas escamas cuticulares muestran grosores de 0.3-0.5  $\mu\text{m}$  y una longitud entre 40-60  $\mu\text{m}$ , según informa Yu et al. (2017).

### Figura 7

Diagrama de la fibra de cabello humano



Fuente: Adaptada de Jones (2001)

Las cutículas están constituidas por cuatro capas: epicutícula, capa "a", exocutícula y endocutícula. (Marshall et al., 1991). La característica de la epicutícula es su impermeabilidad al agua, ya que se constituye por lípidos unidos a proteínas mediante enlaces covalentes. (Yang et al., 2014). Los análisis de esta capa indican que contiene 80% de proteínas, 5% de lípidos y 4% de material inorgánico. (Bradbury, 1973). La exocutícula es una capa rica en azufre gracias a la abundante concentración de cisteína, estos átomos son una necesidad para los puentes disulfuro que mantienen unida su estructura. La capa de la exocutícula se ubica por debajo de la epicutícula. Por otro lado, la endocutícula es la capa más interna de la cutícula, siendo su principal característica el bajo contenido de cisteína y, por tanto, poco contenido en azufre. (Yang et al., 2014).

Las células cuticulares y las de la corteza, están rodeadas por el complejo de membrana celular (CMC), la cual es una estructura laminada rica en lípidos y proteínas. (Jones, 2001). El CMC está presente a lo largo de toda la fibra del cabello, sin embargo, es el menor componente de esta. La figura 7 muestra la conformación de una fibra de cabello, así como la distribución descrita hasta el momento.

**B) Composición del cabello humano.** Según lo descrito, el cabello es una estructura queratinizada que está envuelta por la cutícula. Todas las estructuras internas de la fibra de cabello están separadas por el complejo de la membrana celular (alrededor de 100 células en cada capa de membrana). Por otra parte, la corteza contiene principalmente 90% de microfibrillas, compuesta por unos cuantos cientos de proteínas filamentosas, empaquetadas en una matriz; el otro 10% restante está compuesto de gránulos de pigmento. (Buffoli et al., 2014).

La composición mayoritaria de los aminoácidos en el cabello presenta 11.4% de ácido glutámico, 11.7% de serina y 17.8% de cistina (concentración media de cistina), esto se manifiesta en la estructura del cabello humano ya que contiene 85% de proteína, 7% de agua, 3% lípidos, 4.7% proteínas sulfuradas y trazas de minerales (hierro, cinc y cobre). La principal proteína presente en el cabello es la queratina (90%) y una pequeña cantidad de lípidos (entre 1% y 9%). (Buffoli et



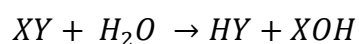
al., 2014). Además, el cabello humano presenta las siguientes características fisicoquímicas:

- % Proteínas: 65 – 95
- % Humedad: Hasta 32
- % Ceniza: 0.5 – 0.94
- Densidad (g/cc): 1.25 – 1.30
- pH: 4.5 – 5.5

**C) Alteraciones del cabello humano.** El cabello humano está expuesto a diversos agentes que terminan afectando su estructura, estos agentes pueden ser químicos, mecánicos o ambientales. Los más comunes y perjudiciales son los de naturaleza química y mecánica, debido a que generalmente se realizan tratamientos de cabello con fines estéticos. Estas actividades utilizan la porosidad de la cutícula para modificar la apariencia del cabello, lo que degrada su estructura con cada tratamiento realizado. Entre los agentes químicos tenemos a los decolorantes, tintes, champús agresivos, cloro de piscina y agua de mar; por otra parte, los tratamientos mecánicos más conocidos son los cepillados agresivos, alisados, brushing y uso de secador. (Garrote et al., 2008). El peróxido de hidrógeno es el agente químico oxidante principal de los decolorantes y tintes. Si bien su acción está enfocada en degradar la melanina del cabello, también degrada la proteína de queratina, ya que ésta presenta grupos oxidables en su estructura, llegando a romperse hasta el 45% de enlaces de cistina. (Suárez, 2017).

### 2.2.3 Hidrólisis

La hidrólisis es una reacción originada por disociación del agua en sus iones hidronio e hidroxilo, esta separación da lugar a reacciones de los iones con iones de otros compuestos inorgánicos y orgánicos, según se muestra a continuación:



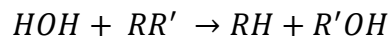
Para los compuestos orgánicos, el concepto de hidrólisis se entiende como la

acción que tiene uno de los iones del agua para romper los enlaces.

**A) Hidrólisis ácida.** En la hidrólisis ácida, el ion  $H^+$  rompe los enlaces químicos mediante una reacción nucleofílica cuando se añade agua. La conversión de la celulosa o de almidón en glucosa es un ejemplo de este tipo de hidrólisis.

**B) Hidrólisis alcalina.** En el caso de hidrólisis alcalina, el ion  $OH^-$  se disuelve y desintegra el material orgánico mediante reacción con parte de éste. Aunque el principio de la hidrólisis alcalina es único, podemos usar variados diseños de equipos para diferentes materiales a hidrolizar.

**C) Hidrólisis enzimática.** Este tipo de hidrólisis se produce por las enzimas llamadas hidrolasas. Las enzimas tienen un efecto catalítico hidrolizante, produciendo ruptura de enlaces según la siguiente reacción:



Este tipo de hidrólisis es más selectivo por la característica de las enzimas, ya que estas sustancias son específicas para reaccionar con un tipo de aminoácido, siendo esa particularidad la que le brinda considerables ventajas según el tipo de proteína que se requiera.

#### **2.2.4 Hidrólisis de proteínas**

El tratamiento de proteínas es practicado desde hace mucho tiempo, pese a esto, en sus inicios no fue un proceso rápido, por lo que en su desarrollo importantes avances se lograron para estos procesos, optimizando parámetros de operación reduciendo tiempos de hidrólisis desde 5 días hasta 3 horas actualmente (en algunos casos).

El grado de hidrólisis es la principal propiedad de un hidrolizado y este valor está sujeto a los parámetros usados en el proceso, justamente de este parámetro dependen otras características de los hidrolizados de proteínas. (Benítez et al., 2008).

**A) Hidrólisis ácida y alcalina de proteínas.** Este tipo de hidrólisis se caracteriza por destruir y acortar las cadenas peptídicas de las proteínas, cuando algunos enlaces son atacados por agentes ácidos o alcalinos. Los casos más estudiados son para los agentes hidrolizantes HCl y NaOH. Los ataques químicos son pocos selectivos, debido a que su ataque es agresivo y rápido, lo que tiene un efecto de rotura de cadenas peptídicas, enlaces disulfuro y enlaces salinos. Esta característica genera muchos subproductos, pudiendo degradar hasta los dímeros de las moléculas de queratina.

**B) Hidrólisis enzimática de proteínas.** Este tipo de proceso, son selectivos ya que las enzimas son específicas para un tipo de enlace, sin embargo, las reacciones de hidrólisis enzimática son más lentas que las alcalinas o ácidas. Otra característica de estos procesos es que se lleva a cabo a baja temperatura y pH moderado (generalmente no supera los 60 °C y el pH puede ser medios ácidos o neutros). Operativamente, tienen la característica de no requerir sales para neutralización de la mezcla reaccionante. La hidrólisis enzimática no destruye los componentes separados, es decir, el proceso culmina con la rotura de enlace específico, de manera que no sigue degradando a los péptidos. (Guadix et al., 2000).

### Figura 8

*Mecanismo catalítico de proteasas*



*Fuente:* Benítez et al. (2008).

Benítez et al. (2008), proponen tres etapas para la hidrólisis enzimática de proteínas. El proceso inicia con la formación del complejo enzima-sustrato (proteína), luego se liberan los péptidos como resultado de roturas de enlaces amídicos. En la última etapa, el péptido unido a la enzima es afectado por un ataque nucleofílico de una molécula de agua. Después, el proceso se puede

repetir sobre los dos nuevos péptidos o sobre uno de ellos. La figura 8, detalla la secuencia de reacciones (E: enzima, S: sustrato, P, P': péptidos resultantes,  $k_x$ : constante velocidad de reacción). Para entender el proceso revisar el trabajo de Benítez et al. (2008).

Para el caso de moléculas globulares y en estado plegado, se requiere realizar previamente una desnaturalización de la proteína (para exponer los enlaces peptídicos) antes de hidrolizarla.

## **2.3 Conceptual**

### **2.3.1 Residuos de cabello humano**

Son los restos generados después de cortar el cabello de personas en salones de belleza y peluquerías de las ciudades. En base a la información de la composición del tallo del cabello, se puede afirmar que la parte principal es la corteza y la cutícula, representando la primera, más del 70% del volumen del tallo. Adicional a ello, ambas partes están formadas por diferentes tipos de queratinas, de modo que estos residuos generados en las peluquerías llegan a tener hasta 90% queratina.

### **2.3.2 Hidrólisis de queratinas**

La industria cosmética es la que más usos le da al hidrolizado de queratinas, muchas empresas la presentan en sus productos, sin embargo, cuando se trata de usar queratina hidrolizada de cabello humano debe tenerse en cuenta que debe obtenerse desde cabellos que no presenten alteraciones o tratamientos químicos/mecánicos. (Gupta, 2014).

La principal característica de las queratinas es su alta estabilidad y hace que el proceso de hidrólisis se realice en condiciones drásticas, es decir, con altas concentraciones de agente hidrolizante. Por esta razón deben realizarse con métodos ácidos o alcalinos, y en casos específicos mediante métodos enzimáticos. (Krejci et al., 2011). Diversos trabajos reportaron hidrolizados de queratina de cabello con pesos moleculares de 1000 Da en promedio, con

variaciones desde 11000 Da, 400 Da y en algunos casos hasta 150 Da. (Bergfeld et al., 2016). Esto quiere decir que se presentan roturas o separaciones de las cadenas de la queratina en el 98% de la estructura original, considerando que la queratina tiene pesos promedios de 60 000 Da. Valores tan bajos como el de 150 Da, podría indicar una destrucción de hidrolizados y por tanto obtención de otro tipo de compuestos.

**A) Hidrólisis ácida y alcalina de queratinas.** La característica de este tipo de hidrólisis es que pueden romper ambos enlaces de las queratinas (disulfuro y péptidos), por lo que la estructura de la queratina original no es igual a la estructura del hidrolizado de queratina. (Krejci et al., 2011).

Los métodos químicos para extraer queratinas pueden ser mediante agentes oxidantes y agentes reductores. Entre los reactivos oxidantes más estudiados, tenemos compuestos como el bromo, permanganato y peróxido de hidrógeno; por su parte los agentes reductores son el ácido tioglicólico, cianuro de potasio, sulfuro de sodio y sulfito de sodio. Los reactivos oxidantes no son específicos para los enlaces disulfuro, por lo que atacan a la molécula de la queratina en otros puntos y, además, su ataque no es rápido. Por su parte, los agentes reductores tienen como principal acción, alterar químicamente a los enlaces disulfuro y actúan rápidamente. Estos reactivos solo pueden disolver queratinas a pH alcalino, entre 10 y 13, en algunas ocasiones en pH neutro. (Goddard & Michaelis, 1934).

Se reportaron uso de ácidos orgánicos (algunos oxidantes otros reductores), para extraer queratina desde lana de oveja, los resultados alcanzados mostraron  $\alpha$ -queratinas con pesos  $\sim$ 50 kDa y  $\gamma$ -keratinas con pesos de  $\sim$ 15 kDa, así como los aminoácidos glicina y tirosina con pesos 11 kDa. Evidentemente pesos semejantes a las queratinas originales indican bajo rendimiento de la extracción con este tipo de químicos, según lo indicado en el trabajo de Bergfeld et al. (2016).

Existen también procesos donde usan algunos componentes alcalinos (NaOH, KOH,  $K_2CO_3$ ,  $Ca(OH)_2$ , etc.) y agentes ácidos (HCl,  $H_2SO_4$ , etc.). Este tipo de

tratamientos duran entre 2-3 horas y por ser a temperaturas altas promueven la apertura de enlaces disulfuro para generar polipéptidos en reacciones rápidas. (Karthikeyan et al., 2007).

Un estudio interesante es el de Staroń et al. (2014), quienes trabajaron con hidrólisis alcalina usando  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , obtuvieron hasta 90% proteínas totales hidrolizadas cuando el tiempo de reacción fue de 240 minutos, trabajando con temperaturas en el rango de 90 a 110 °C.

**B) Hidrólisis enzimática de queratinas.** En general las queratinasas tienen capacidad de catalizar la hidrólisis produciendo proteínas de queratina muy estables. Este proceso se define por dos etapas, la sulfólisis (rotura de los enlaces disulfuro), proceso que puede ser ayudado eventualmente por un reductor de sulfuros (un tratamiento alcalino o ácido previo); la otra etapa es la proteólisis, proceso que es apoyado por la liberación de los sulfuros que permiten acceso queratinasas para generar desde oligopeptidos hasta aminoácidos. (Navone & Speight, 2020).

Para hidrolizar la queratina de la lana de oveja, algunos autores comentan que cuando se realiza una limpieza previa para remover sólidos y aceites, se logra una solución de hidrolizado de queratina con pesos moleculares ~1 kDa. Y cuando no se realizó la limpieza los pesos del hidrolizado fueron en promedio 3 kDa. Estos resultados indican que el método de hidrólisis enzimática tiene mayor rendimiento que la hidrólisis química. (Bergfeld et al., 2016).

Por otro lado, Mokrejs et al. (2011), realizaron pruebas a nivel de laboratorio con una hidrólisis combinada alcalina-enzimática de fibras de lana, hidrolizan por 24h con hidróxido de calcio, luego, estabilizan el pH en 9 para agregar la enzima Esperasa 6.0T. Terminada la etapa enzimática, filtran y se centrifuga el líquido que contiene el hidrolizado. Finalmente es calentado a más de 80 °C para desactivar la enzima. Los resultados obtenidos en este estudio fue una degradación de 60% de la fibra de lana y pesos moleculares del hidrolizado en rangos de 6.5 kDa a 26 kDa.

**C) Enzimas y proteasas.** Las enzimas se clasifican en siete grupos: oxidoreductasas, transferasas, liasas, isomerasas, ligasas, translocasas e hidrolasas. Dentro de las hidrolasas, las enzimas que catalizan la desintegración de proteínas por rotura de enlaces peptídicos (queratinas), son las proteasas, llamadas también proteinasas, peptidasas o enzimas preolíticas. Las proteasas son una clase de enzimas que presentan una gran cantidad de aplicaciones en industria farmacéutica, agrícola y alimentaria. (Das & Prasad, 2010).

El *Bacillus subtilis* es la bacteria productora de proteasas extracelulares, esta bacteria es de las más empleadas en las industrias para producir enzimas de amilasas y proteasas.

**Tabla 2**

*Rangos de operación de proteasas industriales*

Enzima	Origen	Estabilidad	
		pH	T(°C)
Alcala 0.6L	<i>B. lincheniformis</i>	4 < pH < 11.5	50 < T < 60
Neutrasa	<i>B. subtilis</i>	6 < pH < 8	45 < T < 55
Proteasa 660L	<i>B. subtilis</i>	7 < pH < 10	50 < T < 70
Fungal-Protease	<i>A. oryzae</i>	6 < pH < 9	45 < T < 55
P.E.M. 2500 S	tripsina porcina	6 < pH < 10	30 < T < 60
P.E.M. 2500 S	tripsina bovina	6 < pH < 10	25 < T < 45
Corolase PP	tripsina quimiotripsina	7 < pH < 9	45 < T < 55
Corolase PS	<i>A. oryzae</i>	5 < pH < 7	50 < T < 60
Corolase 7089	<i>B. subtilis</i>	6 < pH < 8.5	50 < T < 60
Bromelaina Takamina	vegetal (pizae)	4 < pH < 9	20 < T < 65
Papaína Takamina	vegetal (papaya)	6 < pH < 8	20 < T < 75

Fuente: Adaptado de Guadix et al. (2000).

Las condiciones de trabajo de las proteasas generalmente están en rangos de pH entre 4 – 9, por otro lado, las temperaturas de operación de estas proteasas varían desde 30 a 70 °C. En la tabla 2, se detallan las principales proteasas comerciales con sus respectivos rangos de pH y rango de temperaturas ideales de trabajo, información detallada en el trabajo de Guadix et al. (2000).

**D) Enzimas queratinolíticas.** Es un tipo especial de proteasas que cuentan con una actividad de sustratos queratinosos igual o mayor a 5. Dentro de este grupo se ubican las queratinasas obtenidas del *Bacillus sp.* *Chryseobacterium indologenes* y la especie *Kocuria*, según los autores Bernal et al. (2006) y Wang et al. (2008), citados por Cavello et al. (2013).

Las queratinasas son proteasas neutra-alcalinas, trabajan a pH en el rango de 7.5 – 9.0. El género *Bacillus* es la más estudiada como productora de queratinasas. Entre las más importantes y estudiadas de este grupo, están la Proteasa P5860 y la Proteasa P3111, las que tienen a la queratina como sustrato para producir hidrolizados de queratina. Para mayor detalle revisar el trabajo de Lange et al. (2016).

**E) Mecanismo de hidrólisis enzimática.** Para el caso de la hidrólisis enzimática de queratina, al igual que para otras proteínas, la sulfólisis y la proteólisis son las dos principales etapas, con la particularidad que en la sulfólisis puede usarse un agente reductor (enzima). (Cavello et al., 2013).

En el caso de las enzimas, diversos tipos de queratinasas pueden atacar a la queratina. Existen familias de estas proteasas que se pueden agrupar según el tipo de rotura que realizan en las cadenas de queratina. El primer grupo son las proteasas que atacan internamente a la queratina, por ello reciben la denominación de endoproteasas, las cuales actúan dentro de la cadena en hélice de la  $\alpha$ -queratina, descomponiendo la estructura de la queratina en pequeños péptidos. El segundo grupo identificado son las exoproteasas, estos son agentes que atacan a la cadena de queratina en sus extremos (cola y cabeza de la molécula de queratina). Un tercer grupo denominado oligopeptidasas, son enzimas encargadas de hidrolizar los residuos hasta descomponerlos en aminoácidos.

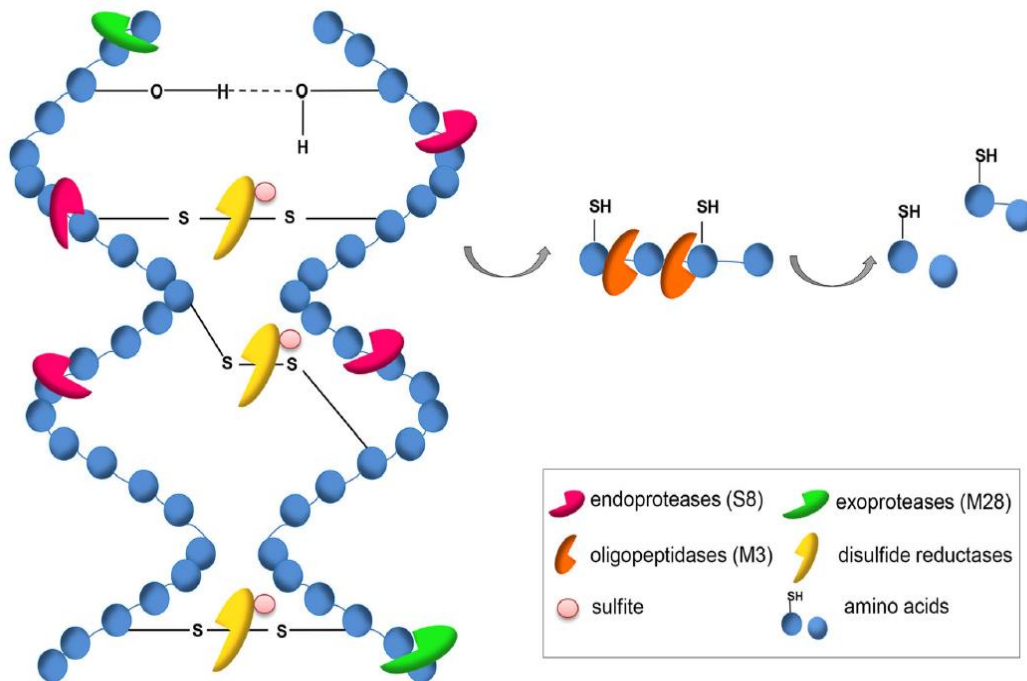
Según Lange et al. (2016) y Qiu et al. (2020), trabajando con mezclas de estos tres grupos es posible hidrolizar la queratina hasta degradarla a monómeros de sus aminoácidos constituyentes o péptidos más pequeños. Sin embargo, para lograr esto, se requiere de apoyo de un agente reductor en la etapa de sulfólisis, en este caso los autores mencionan a un cuarto grupo, las enzimas disulfuro



reductasas, estos agentes se encargarán de romper los enlaces disulfuro en las cadenas de queratinas, así como en las asociaciones de dímero y tetrámero que estas presentan en el cabello (ver la figura 9).

## Figura 9

*Proteasas y sus efectos en la descomposición de queratinas*



*Fuente: Lange et al. (2016).*

Sobre la etapa de sulfólisis, Cavello et al. (2013) indica que es necesaria esta etapa para que las queratinasas puedan degradar las queratinas hasta pequeños péptidos. Este autor menciona también, que otras proteasas podrían degradar la queratina, siempre que previamente los residuos hidrofóbicos presentes en la superficie de la queratina se eliminen por queratinasas, este último concepto citando al trabajo de Ramnani & Gupta (2007).

## 2.4 Definición de términos básicos

**Enlace disulfuro:** Unión covalente entre dos átomos de azufre. Este tipo de enlaces se forman por la oxidación de dos grupos sulfhidrilo (SH), cada uno perteneciente a una molécula de cisteína. Son frecuentes entre cadenas

polipeptídicas diferentes de una misma proteína.

**Hidrolisis alcalina:** La hidrólisis alcalina es un método químico para la rotura del enlace peptídico (para compuestos orgánicos) y en consecuencia la generación de péptidos de menor tamaño y aminoácidos libres, por la acción de hidróxidos. Para esta investigación se utilizó hidróxido de calcio.

**Hidrólisis enzimática:** Es un método biológico para la rotura del enlace peptídico (para compuestos orgánicos) que genera péptidos de menor tamaño, aminoácidos libres y residuos. Este proceso se realizó con proteasa comercial.

**Enzima proteasa:** Tipo de enzima que descompone las proteínas en proteínas más pequeñas o unidades proteicas más pequeñas, como péptidos o aminoácidos.

**Queratina:** Proteína estructural estable, insoluble y fibrosa que se encuentra en tejidos epiteliales y tejidos protectores como el cabello.

**Cabello:** Residuo de cabello humano utilizado como materia prima para obtener hidrolizado de queratina.

**Condiciones de hidrólisis:** Parámetros seleccionados para la hidrólisis de residuos de cabello. Los parámetros trabajados son: temperatura, concentración de reactantes, velocidad de agitación, tiempo de hidrólisis.

### **III. HIPÓTESIS Y VARIABLES**

#### **3.1.1 Hipótesis**

- **Hipótesis general**

La hidrólisis en condiciones óptimas garantiza un rendimiento del 60% en la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.

- **Hipótesis específica**

Las características del residuo de cabello humano generado en las peluquerías deben ser de un tamaño menor a 1 cm, sin tratamiento químico/térmico.

La hidrólisis alcalina del cabello humano con hidróxido de calcio, al 0.5% p/v, 95 °C, 200 RPM por 3 horas de reacción, logra obtener hidrolizado de queratina con una concentración de proteína de 5 mg/mL.

La hidrólisis enzimática con proteasa al 5% v/v, 40 °C, 200 RPM por 5 horas, logra incrementar la concentración del hidrolizado de queratina de los hidrolizados alcalinos hasta 10 mg/mL.

#### **3.2 Definición conceptual de variables**

- **Variables dependientes**

Y = Hidrolizado de queratina

Solución acuosa de un hidrolizado de proteínas obtenido a partir de la queratina proveniente del cabello humano.

- **Variables independientes**

X1 = Residuo de cabello humano

Residuo generado mayormente en las peluquerías con un alto contenido de queratina en su composición.

X2 = Hidrólisis alcalina

Proceso donde se varía la concentración del hidróxido de calcio, así como las otras condiciones que son la temperatura, velocidad de agitación y las horas de reacción, para desestabilizar la fibra del cabello.

X3 = Hidrólisis enzimática

Proceso donde se varía la concentración de la proteasa, así como las otras condiciones que son la temperatura, velocidad de agitación y las horas de reacción, para lograr la separación selectiva de proteínas de queratina.

### 3.2.1 Operacionalización de variables

**Tabla 3**

*Operacionalización de variables*

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL DE LA VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LA VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	ITEMS	MÉTODO
<b>VARIABLES DEPENDIENTES:</b>						
Y: Hidrolizado de queratina	Es el resultado de modificar el residuo de cabello mediante hidrólisis alcalina y enzimática de manera óptima para obtener porciones de la proteína queratina. (Krejci et al., 2011).	La determinación del rendimiento de la concentración del hidrolizado de queratina se realiza mediante el método de Lowry para determinación de proteínas.	Y1 Concentración del hidrolizado de queratina  Y2 Rendimiento	Y1.1 peso de proteína por volumen de hidrolizado de queratina.  Y2.1 % de hidrolizado de queratina obtenida (hidrolizado de queratina obtenida/hidrolizado de queratina teórica)	mg/mL  (g/g muestra) *100%	Método de Lowry  Cálculo matemático
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES:</b>						
X1: Residuo de cabello humano	Material que carece de valor para la sociedad, siendo uno de los principales residuos municipales a nivel mundial. (Gupta, 2014).	El residuo de cabello humano se define según el tipo de procedencia (hombre, mujer, niño).	X1.1 Tipo de cabello	X1.1.1 Sexo  X1.1.2 Edad	Hombre, mujer  Adulto, niño	Nominal  Nominal

X2: Hidrólisis alcalina	El proceso de hidrólisis se verifica variando la concentración y tipo de hidrolizante, temperatura, velocidad de agitación y tiempo de reacción de hidrólisis alcalina que ataca péptidos de gran peso molecular y de baja selectividad. (Gousterova et al., 2005).	Las condiciones de hidrólisis empleando un álcali para desestabilizar las fibras de cabello	X2.1	X2.1.1	Ca(OH) <sub>2</sub>	Polvo	Gravimetria
			Características del hidrolizante.	X2.1.2	Concentración	g/L	Volumetria
				X2.2.1	Temperatura	°C	Termometria
			X2.2	X2.2.2	Velocidad de agitación	RPM	
			X2.2.3	Tiempo de reacción	Horas	Cronometria	
X3: Hidrólisis enzimática	El proceso de hidrólisis se verifica variando la concentración y tipo de hidrolizante, temperatura, velocidad de agitación y tiempo de reacción de la hidrólisis enzimática que ataca péptidos de bajo peso molecular, así como aminoácidos de proteínas y son de alta selectividad. (Gousterova et al., 2005).	Las condiciones de hidrólisis empleando la enzima proteasa para separar la queratina hidrolizada de las otras proteínas.	X3.1	X3.1.1	Proteasa	Solución	Volumetria
			Enzima	X3.1.2	Concentración	L/L	Volumetria
				X3.2.1	Temperatura	°C	Termometria
			X3.2	X3.2.2	Velocidad de agitación	RPM	
			X3.2.3	Tiempo de reacción	Horas	Cronometria	

## **IV. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **4.1 Tipo y diseño de investigación**

#### **4.1.1 Tipo de investigación**

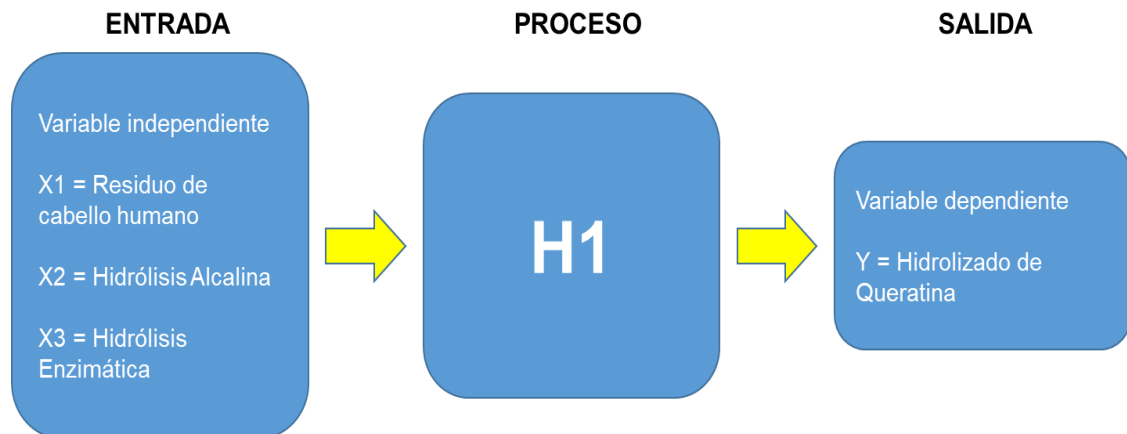
La presente investigación, según el grado de manipulación de las variables, es de tipo experimental, obteniendo información en forma directa, variando el tipo y concentración de agente hidrolizante alcalino, temperatura, tiempo de reacción, velocidad de agitación y concentración de agente hidrolizante enzimático (proteasa), esto con el fin de notar cambios en el proceso mediante la observación, registro y análisis de las variables implicadas. Además, es del tipo cuantitativa ya que estas variables son medibles y se ajustan a un modelo matemático para su evaluación.

En función del propósito con el que se realizan, la investigación es aplicada, ya que se puede implementar sobre una realidad inmediata. Según el periodo temporal en que se realiza, el estudio se caracteriza por ser longitudinal, estudiando la variable a lo largo del tiempo establecido por ser este determinante en la relación causa-efecto.

#### **4.1.2 Diseño de la investigación**

El presente estudio es una investigación de tipo experimental, por la inferencia de los resultados es analítico y estadístico, empleando la inducción. El desarrollo de la investigación se dará en varias etapas, siendo la primera etapa la selección de la procedencia del cabello humano. Posteriormente se continuará con la determinación de las condiciones óptimas de hidrólisis alcalina e hidrólisis enzimática para finalmente determinar la concentración de proteína en el hidrolizado de queratina.

## A) Esquema



## B) Contrastación de la hipótesis

### Hipótesis nula ( $H_0$ )

La hidrólisis en condiciones óptimas no garantiza un rendimiento del 60% en la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.

### Hipótesis alternativa ( $H_1$ ):

La hidrólisis en condiciones óptimas garantiza un rendimiento del 60% en la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.

### 4.1.3 Diseño experimental

La determinación de las condiciones de hidrólisis en cada una de las etapas busca optimizar la obtención de queratina hidrolizada a partir de las muestras de residuos de cabello humano.

**A) Selección de tipo de cabello.** Se hidrolizaron 2 gramos de cabello lavado y seco en 150 mL de solución de agente alcalino, manteniendo fijas las siguientes condiciones:

- Tiempo de reacción: 8 horas
- RPM: 400



- Concentración agente alcalino: 0,4% p/v
- Temperatura: 60°C

Se realizó el siguiente diseño factorial en base a los factores y niveles:

- Factor 1: Tipo de agente hidrolizante. Niveles: NaOH - Ca(OH)<sub>2</sub>
- Factor 2: Tipo de cabello. Niveles: Mujer adulta - varón adulto – niño.

**Tabla 4**

*Matriz del diseño experimental del tipo de cabello*

Nº experimento	Réplica	Tipo de Cabello	Tipo de hidrolizante
1	1	Mujer	Ca
2	2	Mujer	Ca
3	1	Hombre	Ca
4	2	Hombre	Ca
5	1	Niño	Ca
6	2	Niño	Ca
7	1	Mujer	Na
8	2	Mujer	Na
9	1	Hombre	Na
10	2	Hombre	Na
11	1	Niño	Na
12	2	Niño	Na

**B) Selección del agente alcalino hidrolizante.** Se hidrolizaron 2 gramos de muestra pretratada con solución de agente alcalino, manteniendo fijas las siguientes condiciones:

- Tipo de cabello: Proveniente de niños
- Concentración de agente alcalino hidrolizante: 0.4% p/v
- Tiempo de reacción: 8 horas
- Velocidad de reacción: 400 RPM
- Temperatura: 60°C

Se realizó el siguiente diseño factorial completo general

- Factor 1: Tipo de agente hidrolizante. Niveles: NaOH - Ca(OH)<sub>2</sub>
- Factor 2: Tiempo de reacción. Niveles: 1 a 8 horas

**Tabla 5**

*Matriz de diseño experimental del agente alcalino hidrolizante*

Muestra	Reactivo	Tiempo (horas)
1	NaOH	1
2	NaOH	2
3	NaOH	3
4	NaOH	4
5	NaOH	5
6	NaOH	6
7	NaOH	7
8	NaOH	8
9	Ca(OH) <sub>2</sub>	1
10	Ca(OH) <sub>2</sub>	2
11	Ca(OH) <sub>2</sub>	3
12	Ca(OH) <sub>2</sub>	4
13	Ca(OH) <sub>2</sub>	5
14	Ca(OH) <sub>2</sub>	6
15	Ca(OH) <sub>2</sub>	7
16	Ca(OH) <sub>2</sub>	8

**C) Determinación de la concentración del agente alcalino hidrolizante.**

Se hidrolizaron 2 gramos de cabello pretratado en 150 mL de solución de agente alcalino, manteniendo fijas las siguientes condiciones:

- Tipo de cabello: Proveniente de niños
- Tiempo de reacción: 8 horas
- Velocidad de agitación: 400 RPM

Se realizó el diseño factorial 3<sup>2</sup> con 2 réplicas:

- Factor 1: Temperatura. Niveles: 40 - 60 - 80 °C
- Factor 2: Concentración. Niveles: 0,1- 0,3 - 0,5% p/v

**Tabla 6**

*Matriz de diseño experimental de concentración ideal de hidróxido*

N° Experimento	Réplica	Temperatura (°C)	Concentración (mg/mL)
1	1	40	0.1
2	2	40	0.1
3	1	40	0.3
4	2	40	0.3
5	1	40	0.5
6	2	40	0.5
7	1	60	0.1
8	2	60	0.1
9	1	60	0.3
10	2	60	0.3
11	1	60	0.5
12	2	60	0.5
13	1	80	0.1
14	2	80	0.1
15	1	80	0.3
16	2	80	0.3
17	1	80	0.5
18	2	80	0.5

**D) Determinación de la velocidad de agitación.** Se hidrolizaron 2 gramos de cabello pretratado en 150 mL de solución de agente alcalino, manteniendo fijas las siguientes condiciones:

- Tipo de cabello: Proveniente de niños
- Tiempo de reacción: 6 horas
- Concentración  $\text{Ca(OH)}_2$ : 0,5% p/v
- Temperatura de hidrólisis: 80°C

Para la determinación de la velocidad de agitación óptima se realizó el diseño experimental ANOVA de un solo factor.

- Factor: Velocidad de reacción. Niveles: 200 a 700 RPM

**Tabla 7**

*Matriz de diseño experimental de velocidad de agitación*

Nº Experimento	Réplica	Velocidad (RPM)
1	1	200
2	1	300
3	1	400
4	1	500
5	1	600
6	1	700
7	2	200
8	2	300
9	2	400
10	2	500
11	2	600
12	2	700
13	3	200
14	3	300
15	3	400
16	3	500
17	3	600
18	3	700

**E) Determinación de temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina.** Se hidrolizaron 2 gramos de cabello pretratado en 150 mL de solución de agente alcalino, manteniendo fijas las siguientes condiciones:

- Tipo de cabello: Proveniente de niños
- Tiempo de reacción: 6 horas
- Concentración  $\text{Ca(OH)}_2$ : 0,5% p/v
- Velocidad de agitación: 200 RPM

Para la determinación de la velocidad de agitación óptima se realizó el diseño factorial completo general con dos réplicas.

- Factor 1: Temperatura. Niveles: 80 – 85 – 90 - 95 °C

- Factor 2: Tiempo. Niveles: 1 a 6 horas

**Tabla 8**

*Matriz de diseño experimental de temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina*

Temperatura (°C)	Tiempo (horas)
80	1
	2
	3
	4
	5
	6
85	1
	2
	3
	4
	5
	6
90	1
	2
	3
	4
	5
	6
95	1
	2
	3
	4
	5
	6

**F) Determinación de parámetros óptimos de hidrólisis mixta.** La primera etapa, buscó determinar la influencia de la temperatura y concentración de la proteasa para la hidrólisis enzimática. Se hidrolizaron 2 gramos de cabello pretratado en 150 mL de solución de agente alcalino, manteniendo fijas las siguientes condiciones:

- Tipo de cabello: Proveniente de niños
- Temperatura de hidrólisis alcalina: 80°C
- Velocidad de agitación: 200 RPM
- Concentración de Ca(OH)<sub>2</sub>: 0,5% p/v
- Tiempo de hidrólisis alcalina: 6 horas
- Tiempo de hidrólisis enzimática: 6 horas

Se realizó el diseño factorial 2<sup>2</sup> con tres réplicas, donde:

- Factor 1: Concentración de proteasa. Niveles: 1 – 5% v/v
- Factor 2: Temperatura de hidrólisis. Niveles: 40 – 60 °C

**Tabla 9**

*Diseño experimental de concentración y temperatura de hidrólisis enzimática*

Nº Experimento	Conc. Enzima (% v/v)	Temperatura (°C)
1	1	40
2	1	60
3	5	40
4	5	60
5	1	40
6	1	60
7	5	40
8	5	60
9	1	40
10	1	60
11	5	40
12	5	60

La segunda etapa, se optimiza la temperatura de hidrólisis alcalina y la concentración de agente enzimático, para lo cual se hidrolizaron 2 gramos de

cabello lavado y seco en 150 mL de solución de agente alcalino hidrolizante y enzimático, manteniendo fijas las siguientes condiciones:

- Tipo de cabello: Proveniente de niños
- Velocidad de agitación 200 RPM
- Concentración de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ : 0,5% p/v
- Tiempo de hidrólisis alcalina: 3 horas
- Tiempo de hidrólisis enzimática: 5 horas
- Temperatura de hidrólisis enzimática: 40°C

Se realizó el diseño factorial completo general con dos réplicas, donde:

- Factor 1: Concentración de enzima. Niveles: 1-5% v/v
- Factor 2: Temperatura de hidrólisis alcalina. Niveles: 85 – 90 – 95 °C

**Tabla 10**

*Optimización de parámetros de hidrólisis mixta*

Nº Experimento	Réplica	Temperatura Hidrólisis alcalina(°C)	Concentración Proteasa (%v/v)
1	1	85	1
2	1	85	5
3	1	90	1
4	1	90	5
5	1	95	1
6	1	95	5
7	2	85	1
8	2	85	5
9	2	90	1
10	2	90	5
11	2	95	1
12	2	95	5

## 4.2 Método de investigación

### 4.2.1 Método

#### A. Selección de muestra de cabello humano

**Etapa 1 – Pretratamiento de la materia prima.** Los residuos de cabello humano recolectados de las peluquerías se pretrataron mediante un lavado con detergente, luego se enjuagaron con agua potable y fueron llevados a la estufa a 60°C durante 8 horas. Finalmente, el cabello limpio y seco se redujo de tamaño a dimensiones menores a 1 centímetro.

#### Figura 10

*Cabello lavado, seco y cortado*





**Etapa 2 – Hidrólisis alcalina.** En esta etapa se llevó a cabo la reacción de hidrólisis del cabello humano con el agente alcalino hidrolizante (Hidróxido de sodio e hidróxido de calcio), con el objetivo de romper los enlaces del cabello para así iniciar la obtención del hidrolizado de queratina:

Se dispuso de 150 ml de solución del agente alcalino hidrolizante en un matraz de 250ml de capacidad, esta solución se llevó a calentamiento progresivo hasta la temperatura deseada, utilizando un equipo de agitación magnética.

Una vez alcanzada la temperatura de trabajo, se añadió la muestra de cabello previamente pesada, cuidando que éstas no se adhieran en las paredes del matraz, de manera seguida se encendió la agitación por un tiempo definido.

### **Figura 11**

*Acondicionamiento del medio hidrolizante*



**Etapa 3 –Hidrólisis enzimática.** El procedimiento empleado fue el siguiente. Finalizada la hidrólisis alcalina, se acondicionó el medio (pH, temperatura) para agregar la proteasa. Se bajó la temperatura hasta llegar a la deseada y se neutralizó con ácido clorhídrico 1N y 0.1N hasta un pH entre 8 a 9. Se agregó proteasa en diferentes porcentajes (% v/v) con respecto al volumen remanente de la etapa anterior. Se llevó a calentamiento esta solución hasta una temperatura deseada, utilizando el equipo de agitación magnética por un tiempo determinado.

Una vez acabada la hidrólisis alcalina-enzimática, se elevó la temperatura de la solución hasta 85 °C, dejándola a esa temperatura por 15 minutos, esto con el fin de inactivar la proteasa. Luego se dejó enfriar en un baño maría hasta temperatura ambiente.

**Etapa 4 – Filtración.** Con el objetivo de separar los residuos de cabello no degradado y las sales formadas en la hidrólisis mixta se realizó la filtración, es aquí donde se separó el hidrolizado de queratina y los restos, para posteriores análisis y tratamientos.

Se filtró al vacío la mezcla obtenida, el hidrolizado de queratina (parte líquida) se separó y se conservó en un matraz para su neutralización.

**Figura 12**

*Filtración al vacío del hidrolizado de queratina*



**Etapa 5 – Neutralización.** El pH de la solución de hidrolizado de queratina es 8 a 9 aproximadamente, es por esto que se realizó la neutralización con ácido clorhídrico 1N y 0.1 N, hasta llegar a un valor de pH de 7 con un rango de error de  $\pm 0.5$ . Este será el hidrolizado de queratina final deseado.

**Etapa 6 – Lectura por el método de Lowry.** Se muestrearon 5ml del hidrolizado de queratina y fueron diluidas en un matraz aforado hasta 100 ml. Posteriormente se sacaron muestras de 1 ml de esta dilución para cuantificar el hidrolizado de queratina obtenido según el método de Lowry.

## Figura 13

*Determinación de proteínas por método de Lowry*



### 4.2.2 Requerimientos

#### A) Materiales:

- Matraz de 250 mL de capacidad
- Tapón de jebe (diámetro de 5 cm)
- Espátula
- Matraz kitasato de 500ml de capacidad
- Gasa sintética
- Papel filtro
- Fiola de 100 mL de capacidad
- Micropipetas (0,1 ml a 5ml de capacidad)
- Puntas plásticas para micropipetas

#### B) Reactivos:

- Agua destilada (conductividad menor a 5 us/cm)
- Hidróxido de calcio
- Tartrato de sodio y potasio

- Hidróxido de sodio
- Sulfato de cobre
- Albúmina de suero bovino
- Reactivo Folin-Ciocalteu

### **C) Equipos**

- Agitador magnético Oxford Benchmate MHS-10L Velocidad: 200 a 2200 RPM, temperatura del calentador: Ambiente (25 °C) a 320 °C
- Balanza analítica A&D Weighing GR-200 Capacidad: 210g Resolución: 0.0001 g
- Espectrofotómetro UV-VIS VARIAN Cary 50 longitud de onda: 190 a 1100 nm
- Equipo de filtración al vacío
- Potenciómetro Hanna Edge pH -2.00 a 16.00 pH  $\pm$ 1000.0 mV
- Estufa Memmert (5-300 °C)

## **4.3 Población y muestra**

### **4.3.1 Población**

No aplica, por ser estudio experimental

### **4.3.2 Muestra**

Las muestras de residuo de cabello fueron obtenidas de una peluquería llamada Aramis Kids, especializada en niños, ubicada en el distrito de San Miguel. Estas fueron recolectadas cada semana en bolsa con 5 kg de cabello de niños proporcionado por el personal de limpieza.

Para las corridas experimentales se trabajaron con 2 gramos de muestras de cabello limpio, seco y de tamaño reducido.

#### **4.4 Lugar de estudio y periodo desarrollado**

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigación del Instituto de Investigación Especializado en Agroindustrias (IIEA-UNAC) y el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao (FIQ-UNAC). El periodo de desarrollo fue comprendido entre el 2019 y el 2021.

#### **4.5 Técnicas e instrumentos para recolección de la información**

El desarrollo del presente trabajo de investigación ha utilizado técnicas, procedimientos e instrumentos para la observación, registro de datos, resultados de los análisis y mediciones realizadas, requiriendo implementar el laboratorio con equipos, materiales y reactivos.

##### **4.5.1 Técnicas para la recolección de información**

**A) Determinación de proteínas (Método de Lowry).** El método de Lowry (Lowry et al., 1951) es un método colorímetro de valoración cuantitativa de las proteínas. A la muestra se le añade un reactivo que forma un complejo coloreado con las proteínas, siendo la intensidad de color proporcional a la concentración de proteínas, según la ley de Lambert-Beer. Este método consta de dos etapas:

1) Los iones  $\text{Cu}^{+2}$ , en medio alcalino, se unen a las proteínas formando complejos con los átomos de nitrógeno de los enlaces peptídicos. Estos complejos  $\text{Cu}^{+2}$  proteína tienen un color azul claro. Además, provocan el desdoblamiento de la estructura tridimensional de la proteína, exponiéndose los residuos fenólicos de tirosina que van a participar en la segunda etapa de la reacción. El  $\text{Cu}^{+2}$  se mantiene en solución alcalina en forma de su complejo de tartrato.

2) La reducción, también en medio básico, del reactivo de Folin-Ciocalteu por los grupos fenólicos de los residuos de tirosina, presentes en la mayoría de las proteínas, actuando el cobre como catalizador. El principal constituyente del reactivo Folin-Ciocalteu es el ácido fosfomolibdotúngstico, de color amarillo,

que al ser reducido por los grupos feólicos da lugar a un complejo de color azul intenso.

**B) Determinación de potencial de hidrógeno (pH).** Puesto que las concentraciones de los iones  $H^+$  y  $OH^-$  en disoluciones acuosas con frecuencia son números muy pequeños y, por lo tanto, es difícil trabajar con ellos, Sorensen (Bioquímico danés, escribió originalmente el símbolo como p $H$  y designó a la  $p$  como “el exponente del ion hidrógeno”) propuso, en 1909, una medida más práctica denominada pH.

El pH de una disolución se define como el logaritmo negativo de la concentración del ion hidrógeno (en mol/L):  $pH = -\text{Log}[H^+]$ . En el laboratorio, el pH de una disolución se mide con un medidor de pH o más conocido como pH-metro. (Chang, 2010).

**C) Técnica de filtración al vacío.** Es un método de separación que nos permite separar un sólido de un líquido. La filtración al vacío o por succión es más rápida que la filtración por gravedad, la fuerza que hace caer la solución filtrada es la succión que se genera al crear una zona de depresión. Aquí, la fuerza que empleamos es mucho más grande que el peso de la solución que se filtra. (Grau & Gorchs, 2007).

Los materiales para realizar esta técnica son: Matraz kitasato, manguera de silicona, corcho de goma, embudo büchner, bomba de vacío y papel filtro. La manguera de silicona debe conectarse por un extremo a la salida lateral del matraz kitasato, y el otro extremo de la manguera debe conectarse a la bomba de vacío. Un embudo de Büchner se coloca mediante un corcho de goma sobre el kitasato, fijándose bien.

De manera seguida se coloca un papel filtro dentro del embudo Büchner, cabe resaltar que el tamaño del papel debe ser exacto al tamaño del Büchner, todos los orificios del embudo deben quedar tapados por el papel. Para fijar el papel filtro se recomienda añadir unas gotas de agua.

**D) Técnica de centrifugación.** Proceso en el cual la sedimentación se acelera por la aplicación de una fuerza centrífuga. A través de este procedimiento se separan materiales de diferente densidad aplicando una fuerza superior a la de la gravedad.

#### 4.5.2 Instrumentos de recolección de datos

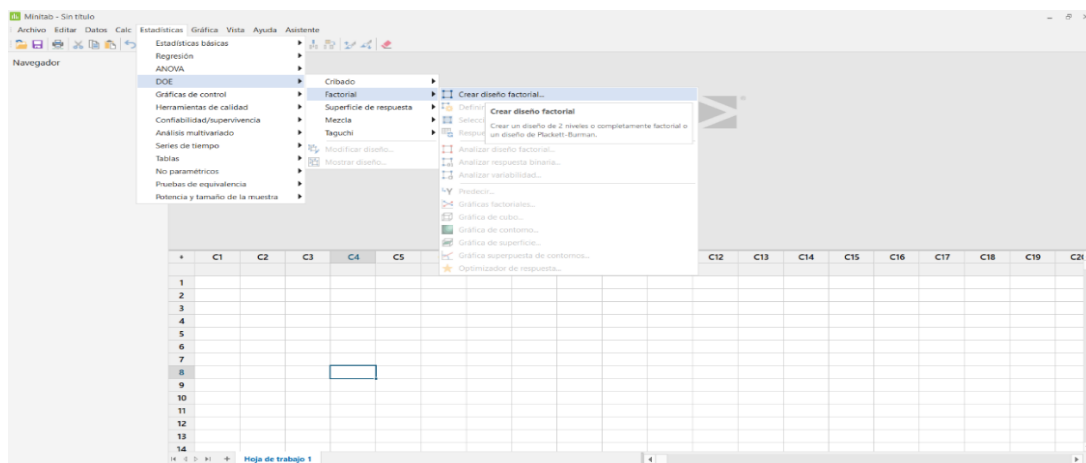
En la presente investigación se utilizaron tablas de diseño experimental, las cuales relacionan las variables trabajadas en cada etapa (ver inciso 4.1.3).

#### 4.6 Análisis y procesamiento de datos

El análisis y procesamiento de datos con apoyo de la estadística descriptiva e inferencial se realizó usando los programas de Minitab 19 y Excel; se evaluó la influencia de las variables y sus interacciones, esto a través de gráficas de efectos principales, gráficas de contorno para las variables con el objetivo de analizar los datos y a partir de ello poder determinar cuáles presentaron un mejor comportamiento para el proceso de obtención de hidrolizado de queratina.

**Figura 14**

*Uso del DOE en el Software Minitab 19*



##### 4.6.1 Determinación del tipo de cabello

Las muestras de cabello de una mujer, un varón y un niño, se someten al tratamiento de hidrolisis para determinar proteínas con los reactivos alcalinos.



#### 4.6.2 Determinación de curva patrón para determinar proteínas

Hay que resaltar que, para la determinación de proteína en el hidrolizado de queratina, se está usando el método de Lowry, el cual añade un reactivo (Folin Ciocalteu) para formar un complejo de color siendo su intensidad proporcional a la concentración de proteína, y poder realizar la medición mediante su absorbancia leída en un espectrofotómetro y con ayuda de la curva de calibración elaborada cada día de análisis usando de patrón la albúmina de suero bovino. (Lowry et al., 1951).

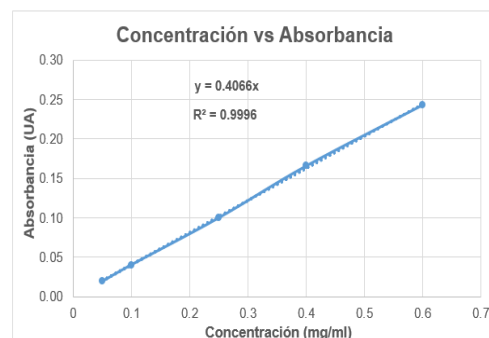
A manera de ejemplo, en la figura 15 se puede observar que con los resultados de las absorbancias correspondientes a los patrones con concentración conocida de proteína (usando albúmina de suero bovino según la metodología de Lowry), se puede elaborar una curva de calibración de la cual se obtiene una ecuación lineal (**Absorbancia = Constante\*Concentración + intercepto**). Con esta ecuación se puede determinar la concentración de cada muestra analizada, utilizando el valor de la absorbancia determinada. Esto según la ley de Lambert-Beer. Esta concentración obtenida será de la alícuota tomada, multiplicada por el factor de dilución de obtiene la concentración real de la muestra (**Concentración real = Concentración alícuota \* Factor de dilución**).

**Figura 15**

*Elaboración de la curva de calibración*

*Curva de calibración concentración vs absorbancia*

N° Punto	Concentración (X)	Absorbancia (Y)
1	0.05	0.019
2	0.10	0.040
3	0.25	0.100
4	0.4	0.166
5	0.6	0.243



## V. RESULTADOS

### 5.1 Resultados descriptivos

#### 5.1.1 Selección de tipo de cabello

Esta etapa se trabajó con 2 g de residuo de cada tipo de cabello de tamaños menores a 1 cm, manteniendo fijos el tiempo de reacción por 8 h, agitación a 400 RPM, concentración de agentes alcalinos en 0.4% p/v, temperatura de reacción a 60 °C.

En la tabla 11 se muestran los valores promedio de concentración de queratina en los hidrolizados con NaOH fueron 2.71, 2.79 y 2.85 mg/mL; en el caso del Ca(OH)<sub>2</sub> fueron de 2.50, 2.63 y 2.92 mg/mL, para las muestras de cabello de mujeres, hombres y niños, respectivamente. La curva patrón usada en el método de Lowry para obtener estos resultados se muestran en la tabla 24 de anexos.

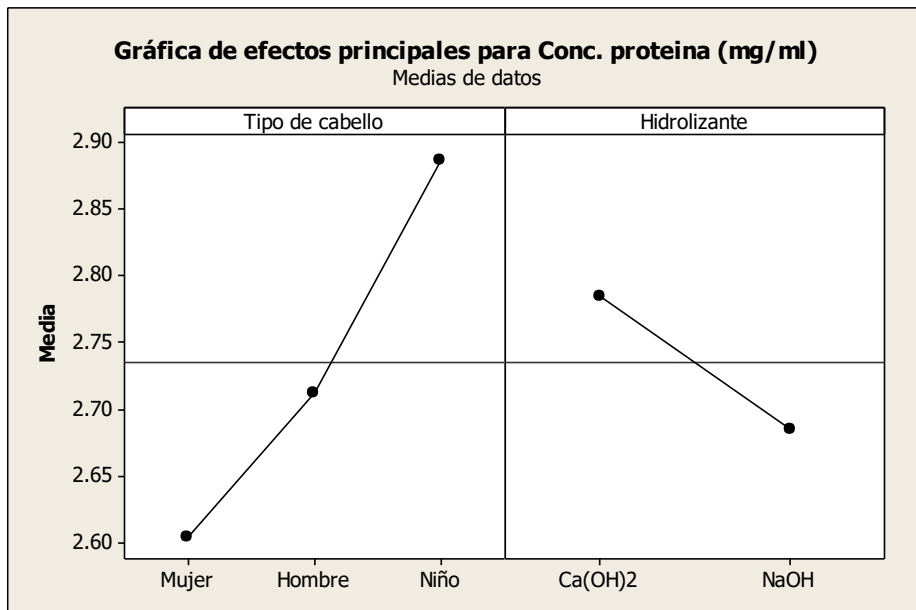
**Tabla 11**

*Concentración de hidrolizado de queratina obtenida según en el tipo de cabello humano*

N° Experimento	Réplica	Tipo de Cabello	Tipo de hidrolizante	Concentración de hidrolizado de queratina(mg/mL)	Promedio de concentración de hidrolizado de queratina (mg/mL)
1	1	Mujer	Ca(OH) <sub>2</sub>	2.63	2.71
2	2	Mujer	Ca(OH) <sub>2</sub>	2.78	
3	1	Hombre	Ca(OH) <sub>2</sub>	2.77	2.79
4	2	Hombre	Ca(OH) <sub>2</sub>	2.82	
5	1	Niño	Ca(OH) <sub>2</sub>	2.86	2.85
6	2	Niño	Ca(OH) <sub>2</sub>	2.85	
7	1	Mujer	NaOH	2.44	2.50
8	2	Mujer	NaOH	2.57	
9	1	Hombre	NaOH	2.59	2.63
10	2	Hombre	NaOH	2.67	
11	1	Niño	NaOH	2.92	2.92
12	2	Niño	NaOH	2.92	

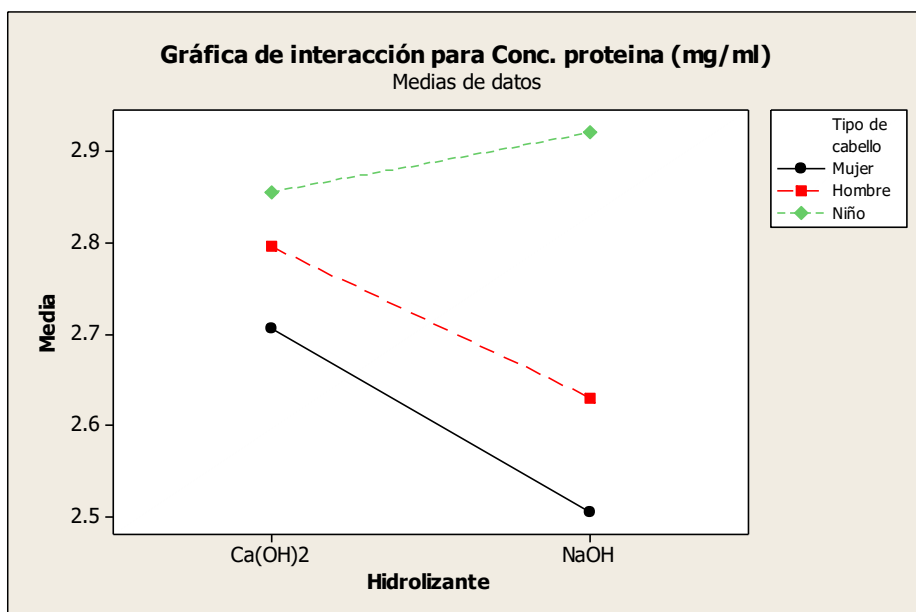
**Figura 16**

*Grafica de efectos principales según tipo de cabello y tipo de hidrolizante alcalino*



**Figura 17**

*Grafica de interacción según tipo de cabello y tipo de hidrolizante alcalino*



En la figura 16 se presenta la gráfica de los efectos principales del tipo de cabello

y el hidrolizante, y la figura 17 muestra la gráfica de la interacción de estos dos factores, en lo concerniente a la interacción se puede observar que las rectas no se cruzan, lo que significa que el tipo de hidrolizante no afecta el comportamiento de los resultados del tipo de cabello, esto es, como se aprecia la concentración media de proteína en los niños es mayor cuando se analiza con el tipo  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y también es mayor con el tipo  $\text{NaOH}$ .

Respecto a los efectos principales de los factores, en el tipo de cabello se puede apreciar que la mayor cantidad de proteína era el de niño, y respecto al hidrolizante se muestra la ventaja de trabajar con hidróxido de calcio que con la base de sodio.

### **5.1.2 Selección del agente alcalino hidrolizante**

En esta etapa se trabajó con 2 g de residuo de cabello de niño (<1 cm), manteniendo fijos el tiempo de hidrolisis alcalina por 8 h, agitación a 400 RPM, concentración de agentes alcalinos en 0.4% p/v, temperatura de reacción a 60 °C.

La tabla 12 muestra los resultados de realizar las pruebas experimentales para selección del agente alcalino hidrolizante. En la figura 18 se presenta la gráfica de los efectos principales del tipo de hidrolizante y el tiempo de reacción, también la figura 19 de la interacción de estos dos factores, en lo concerniente a interacción se puede observar que se tiene aproximadamente dos rectas con una ligera curvatura, con la característica general que se superponen y no se cortan, lo que significa que el tiempo de reacción no afecta el comportamiento de los resultados del tipo de hidrolizante. La curva patrón usada en el método de Lowry para obtener estos resultados se muestran en la tabla 25 de anexos.

Se presenta también los efectos principales de los factores, en el tipo de hidrolizante se puede apreciar que no existe una diferencia marcada en la cantidad de proteína entre ambos agentes alcalinos hidrolizantes ( $\text{NaOH}$  y  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). Sin embargo, el hidrolizado de queratina obtenido con  $\text{NaOH}$  presentó una coloración oscura, ya que al ser una base fuerte, no solo logró romper los

enlaces disulfuro de la queratina sino también degradó los enlaces de la melanina; en contraste con el  $\text{Ca(OH)}_2$  que tuvo una coloración amarilla brillante, color característico de la queratina (ver figura 20). Este fue el principal motivo por el que se eligió trabajar con hidróxido de calcio, ya que deja el hidrolizado libre de melanina (pigmento), reduciendo así etapas posteriores de purificación.

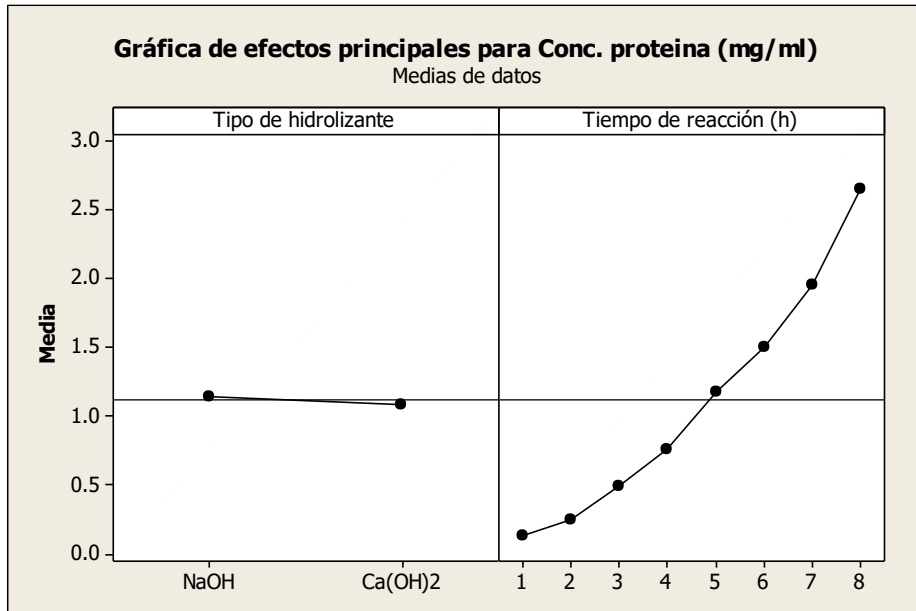
**Tabla 12**

*Resultados de selección de agente alcalino hidrolizante*

N° Experimento	Tipo de Hidrolizante	Tiempo (h)	Concentración de hidrolizado de queratina (mg/ml)
1	NaOH	1	0.24
2	NaOH	2	0.32
3	NaOH	3	0.58
4	NaOH	4	0.81
5	NaOH	5	1.14
6	NaOH	6	1.47
7	NaOH	7	1.96
8	NaOH	8	2.64
9	$\text{Ca(OH)}_2$	1	0.04
10	$\text{Ca(OH)}_2$	2	0.19
11	$\text{Ca(OH)}_2$	3	0.42
12	$\text{Ca(OH)}_2$	4	0.72
13	$\text{Ca(OH)}_2$	5	1.21
14	$\text{Ca(OH)}_2$	6	1.54
15	$\text{Ca(OH)}_2$	7	1.96
16	$\text{Ca(OH)}_2$	8	2.66

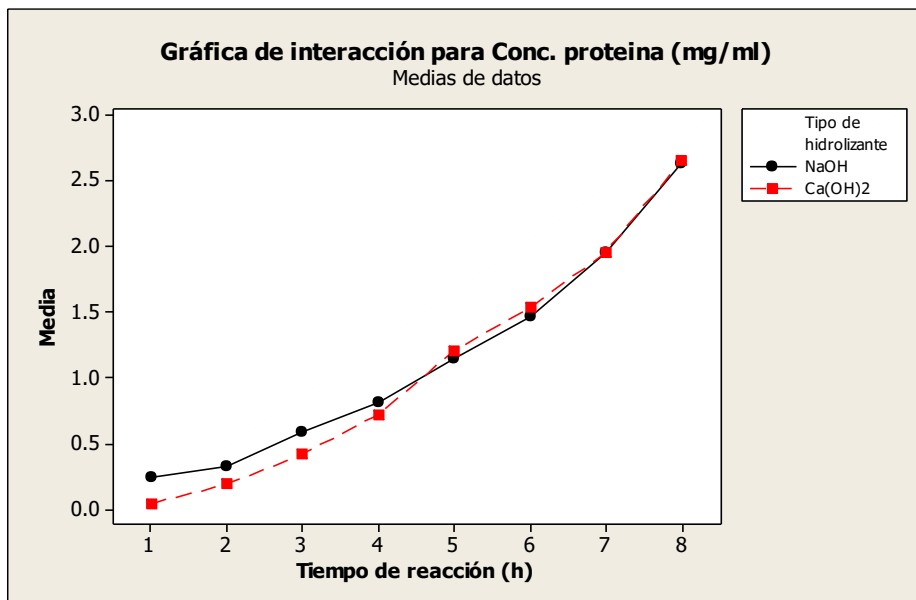
**Figura 18**

*Efectos principales según agente alcalino*



**Figura 19**

*Interacción según agente alcalino*



## Figura 20

*Imagen de hidrolizados de queratina obtenidos para dos tipos de agentes alcalinos*



### 5.1.3 Determinación de la concentración del agente alcalino hidrolizante

A continuación, se muestran los resultados de realizar las pruebas experimentales para la determinación de la concentración del agente alcalino hidrolizante. Se trabajó con 2 g de residuo de cabello de niño (<1 cm), manteniendo fijos el tiempo de hidrolisis alcalina por 8 h, agitación a 400 RPM. La tabla 13 muestra estos resultados y la curva patrón usada en el método de Lowry para obtenerlos se muestran en la tabla 26 de anexos.

En la figura 21 se presenta la gráfica de los efectos principales de la temperatura y la concentración del agente alcalino  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , y también la figura 22 de la interacción de estos dos factores, en lo concerniente a interacción se puede observar que las rectas no son paralelas, esto indica que la interacción es

significativa; con respecto a los efectos principales de los factores, se puede apreciar que al aumentar la concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$  y la temperatura, aumenta la concentración del hidrolizado de queratina.

Para la selección de la concentración óptima del agente alcalino y temperatura de hidrólisis alcalina, se observa que se obtienen mayores valores de concentración de hidrolizado de queratina a una concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$  de 0.5% y una temperatura de trabajo de 80 °C. Esto se puede apreciar al observar la figura 21 y figura 22, donde al aumentar la concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$  y la temperatura, aumenta la concentración del hidrolizado de queratina.

**Tabla 13**

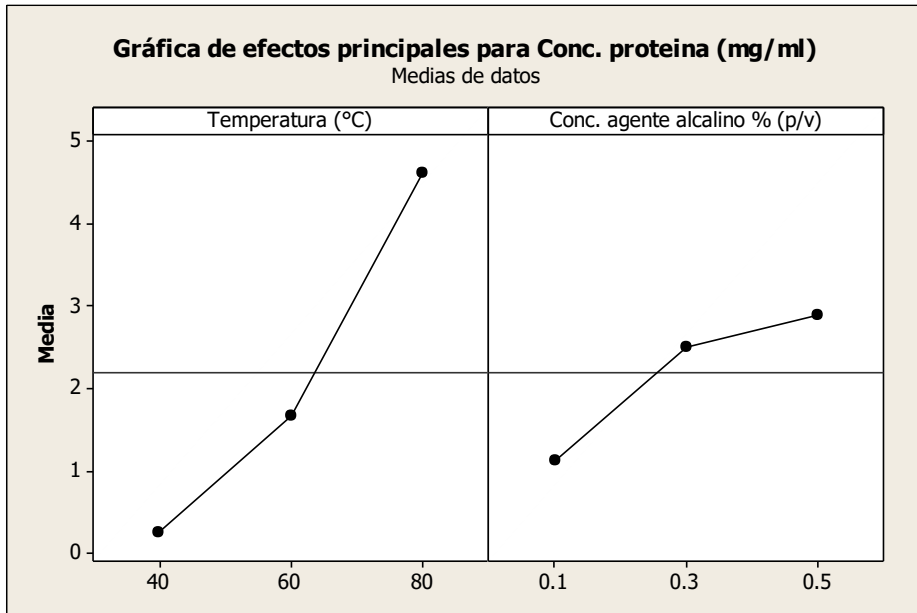
*Resultados de temperatura de hidrólisis y concentración de agente alcalino*

N° Experimento	Réplica	Temperatura (°C)	Conc. de agente alcalino (N)	Concentración de hidrolizado de queratina (mg/ml)	Promedio de concentración hidrolizado de queratina (mg/mL)
1	1	40	0.1	0.12	
2	2	40	0.1	0.09	0.10
3	1	40	0.3	0.27	
4	2	40	0.3	0.34	0.30
5	1	40	0.5	0.38	
6	2	40	0.5	0.38	0.38
7	1	60	0.1	0.55	
8	2	60	0.1	0.54	0.54
9.	1	60	0.3	1.72	
10	2	60	0.3	1.97	1.85
11	1	60	0.5	2.56	
12	2	60	0.5	2.66	2.61
13	1	80	0.1	2.82	
14	2	80	0.1	2.70	2.76
15	1	80	0.3	5.09	
16	2	80	0.3	5.70	5.40
17	1	80	0.5	5.71	
18	2	80	0.5	5.72	5.72



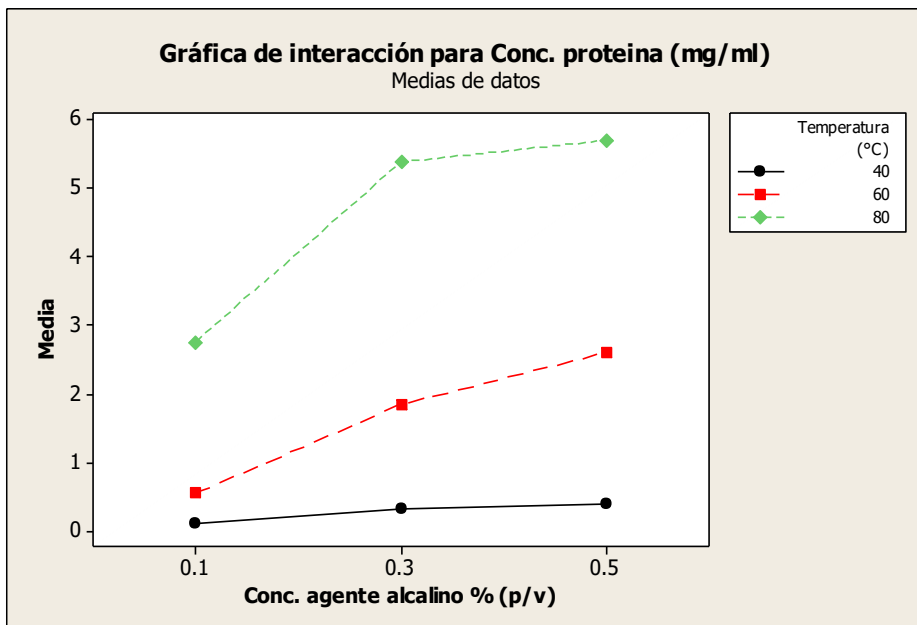
**Figura 21**

*Efectos principales de temperatura y concentración de hidrolisis alcalina*



**Figura 22**

*Interacción de temperatura y concentración de hidrolisis alcalina*

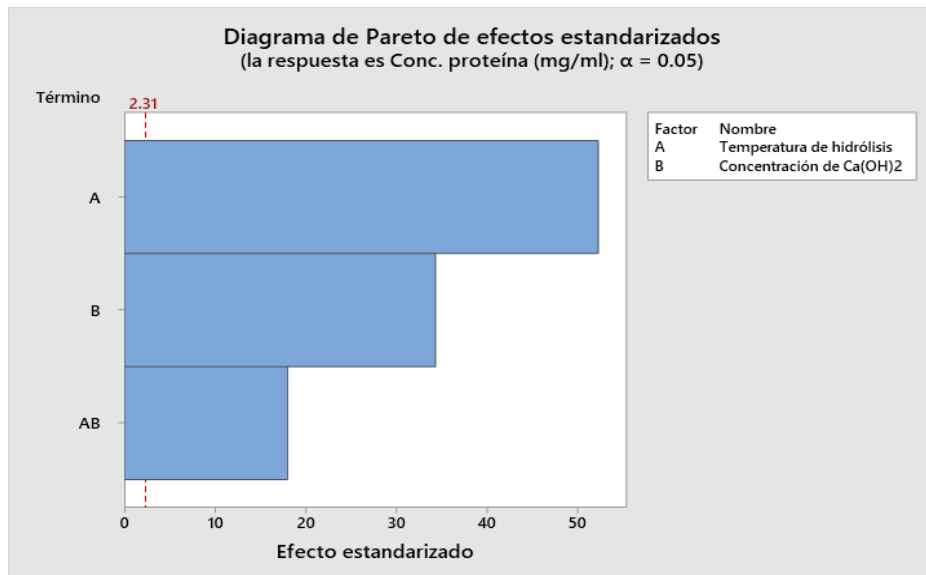


Por otro lado, según se muestra en la figura 23, el factor con mayor significancia estadística para el proceso de hidrólisis alcalina es la temperatura en

comparación a la concentración de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , por lo que fue necesario una posterior optimización de este parámetro a temperaturas mayores de  $80^\circ\text{C}$ .

### Figura 23

*Parámetro de mayor significancia en hidrolisis alcalina*



#### 5.1.4 Determinación de la velocidad de agitación

Para determinar la velocidad de agitación óptima se realizó un análisis ANOVA variando la velocidad desde 200 RPM hasta 700 RPM. Se trabajó con 2 g de cabello de niño ( $<1$  cm), manteniendo fijos el tiempo de hidrolisis alcalina por 6 h, concentración de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  0.5% p/v, temperatura de reacción a  $80^\circ\text{C}$ . La tabla 14 muestra los resultados de esta etapa, además, la curva patrón usada en el método de Lowry se muestran en la tabla 27 de anexos.

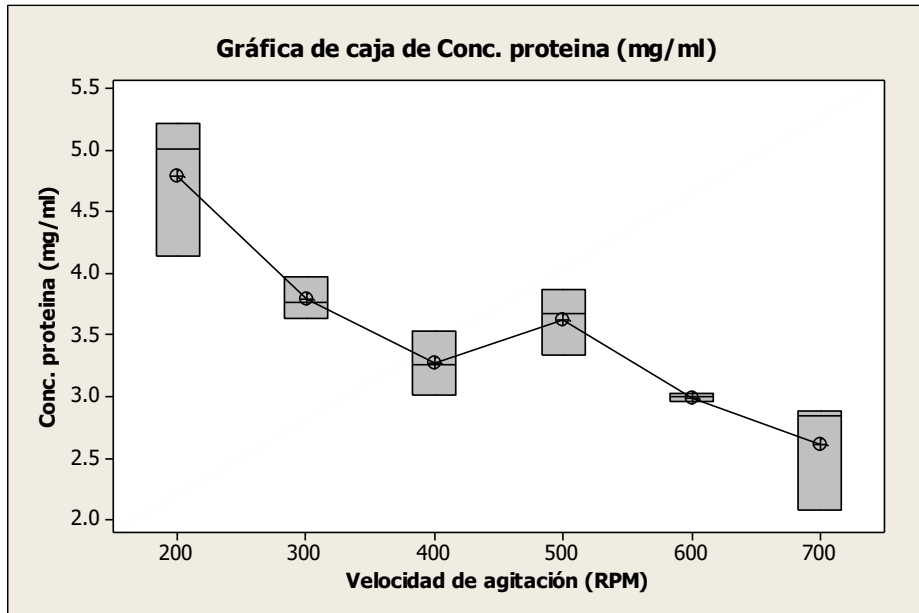
Se observó, mediante la figura 24, que a una menor velocidad de agitación (200 RPM) se obtuvo una mayor concentración de proteína (4.78 mg/mL en promedio) en contraste a las otras velocidades de agitación

**Tabla 14***Resultados de velocidad de agitación*

N° Experimento	Réplica	Velocidad (RPM)	Concentración de hidrolizado de queratina (mg/ml)	Promedio de concentración de hidrolizado de queratina (mg/ml)
1	1	200	5.00	
2	2	200	4.13	4.78
3	3	200	5.21	
4	1	300	3.97	
5	2	300	3.76	3.78
6	3	300	3.63	
7	1	400	3.26	
8	2	400	3.52	3.26
9	3	400	3.01	
10	1	500	3.67	
11	2	500	3.86	3.62
12	3	500	3.33	
13	1	600	2.99	
14	2	600	2.95	2.98
15	3	600	3.02	
16	1	700	2.08	
17	2	700	2.84	2.60
18	3	700	2.88	

**Figura 24**

*Diagrama de cajas en la determinación de velocidad de agitación*



### 5.2.5 Determinación de temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina

Esta etapa se trabajó con 2 g de residuo de cabello de niño (<1 cm), manteniendo fijos el tiempo de hidrólisis alcalina por 6 h, concentración de agente alcalino 0.5% p/v de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , velocidad de agitación de 200 RPM. La tabla 15 reporta los resultados del análisis de temperatura óptima de hidrólisis alcalina, mientras que la curva patrón usada en el método de Lowry para obtenerlos se muestran en la tabla 28 de anexos.

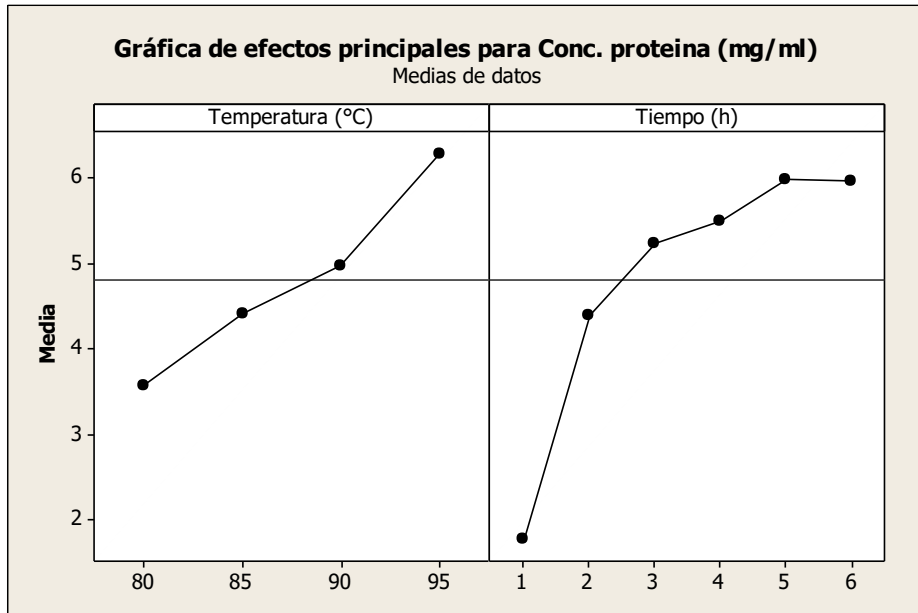
Se evidencia en la figura 25 que, en las tres primeras horas de hidrólisis alcalina a 95 °C, la concentración de proteína asciende de manera significativa en comparación a las horas sucesivas, por lo que se resolvió trabajar con un período de 3 horas para la fase alcalina, para optimizar el proceso. Además, la figura 26 muestra el grado de significancia de la interacción entre tiempo y temperatura de hidrólisis alcalina, los cuales son parámetros importantes en esta etapa. Similar resultado se puede ver en la figura 27, donde se muestra que, en las tres primeras horas de hidrólisis alcalina a 95 °C, la concentración de proteína asciende de manera significativa en comparación a las horas sucesivas.

**Tabla 15***Resultado de temperatura y tiempo de hidrolisis alcalina*

Temperatura	Tiempo (horas)	Concentración de hidrolizado de queratina(mg/ml)
80	1	0.96
	2	2.61
	3	3.82
	4	4.52
	5	4.75
	6	4.78
85	1	0.38
	2	3.89
	3	4.48
	4	5.28
	5	6.39
	6	6.10
90	1	1.59
	2	4.52
	3	5.59
	4	5.79
	5	6.08
	6	6.21
95	1	4.23
	2	6.52
	3	7.04
	4	6.39
	5	6.68
	6	6.79

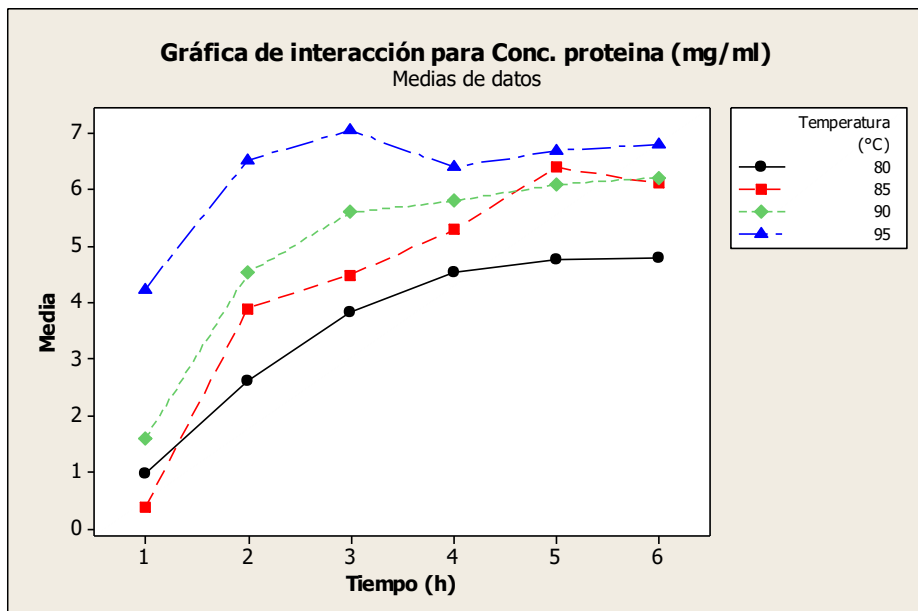
**Figura 25**

*Efectos principales de temperatura y tiempos de hidrolisis alcalina*



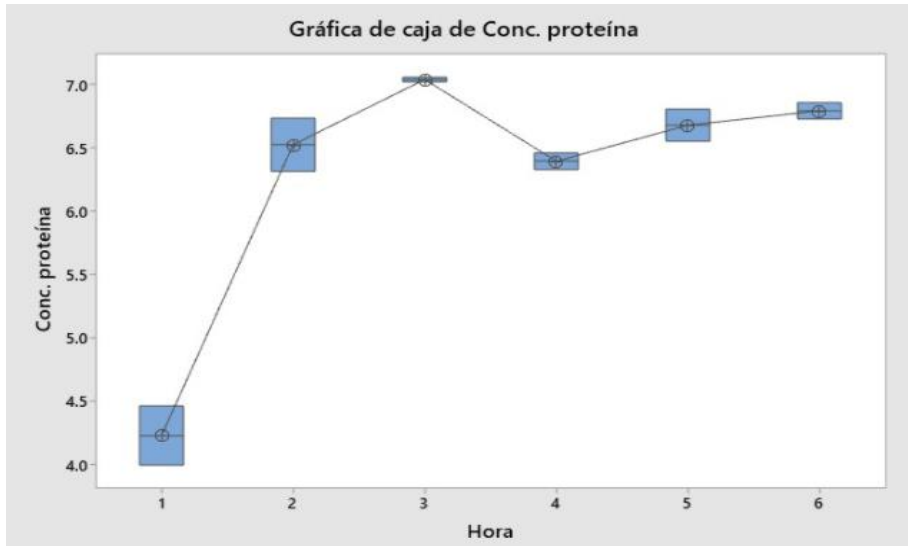
**Figura 26**

*Interacción de temperatura y tiempos de hidrolisis alcalina*



**Figura 27**

*Determinación de tiempo de hidrolisis alcalina a 95°C*



#### **5.1.6 Determinación de parámetros óptimos de hidrólisis mixta**

A continuación, se muestran los resultados de realizar las pruebas experimentales para la determinación de parámetros óptimos de hidrólisis mixta, la cual se realizó en dos etapas.

##### **A) Primera etapa**

La primera etapa se realizó con 2 g de residuo de cabello de niño (<1 cm), manteniendo fijos el tiempo de hidrolisis alcalina por 6 h, concentración de agente alcalino 0.5% p/v de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , velocidad de agitación de 200 rpm, temperatura de hidrolisis alcalina a 80 °C y el tiempo de hidrolisis enzimática por 6 h.

Se muestra en la tabla 16, los resultados de la primera etapa para determinar parámetros óptimos de la hidrolisis mixta. La curva patrón usada en el método de Lowry para obtener estos resultados se muestran en la tabla 29 de anexos.

La figura 28 muestra la gráfica de los efectos principales de la concentración de proteasa y la temperatura, mientras que la figura 29 muestra la interacción de estos dos factores. Respecto a la interacción se puede observar que las rectas

son paralelas, esto indica que no existe interacción. La figura 30 muestra las interacciones entre las variables de operación, siendo evidente que la concentración de proteasa es la más significativa para obtener una mayor concentración final de hidrolizado de queratina. La figura 31 se muestra la gráfica de contorno de la superficie que permite apreciar los valores y rangos óptimos de la concentración de proteína en el proceso de hidrólisis mixta.

**Tabla 16**

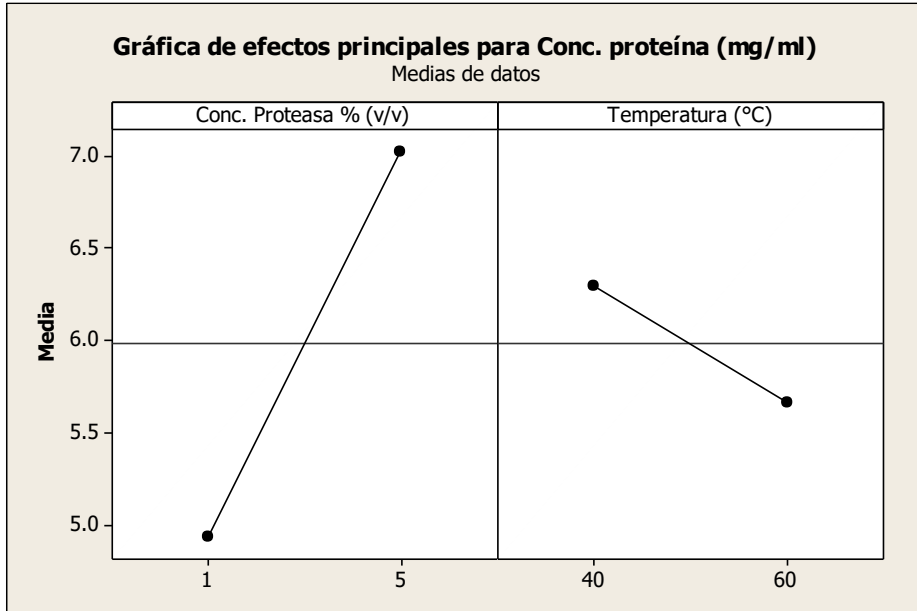
*Resultados temperatura y concentración de hidrolisis enzimática*

N° Experimento	Réplica	Concentración enzima (% v/v)	Temperatura (°C)	Concentración de hidrolizado de queratina (mg/ml)	Promedio de concentración de hidrolizado de queratina (mg/ml)
1	1	1	40	5.02	
2	2	1	40	5.75	5.30
3	3	1	40	5.13	
4	1	1	60	5.68	
5	2	1	60	3.81	4.59
6	3	1	60	4.28	
7	1	5	40	7.43	
8	2	5	40	7.31	7.29
9	3	5	40	7.14	
10	1	5	60	6.98	
11	2	5	60	6.43	6.74
12	3	5	60	6.82	



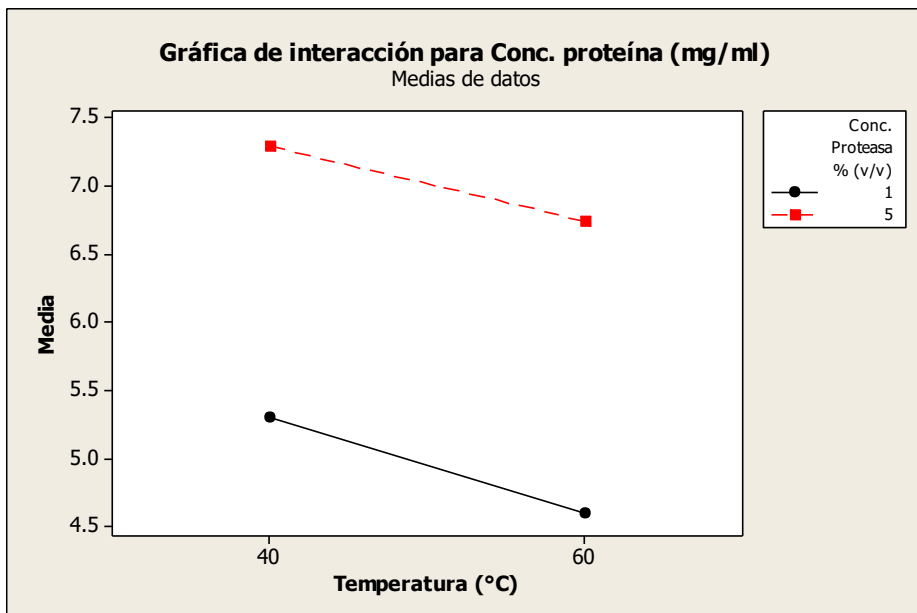
**Figura 28**

*Efectos principales de temperatura y concentración en hidrolisis enzimática*



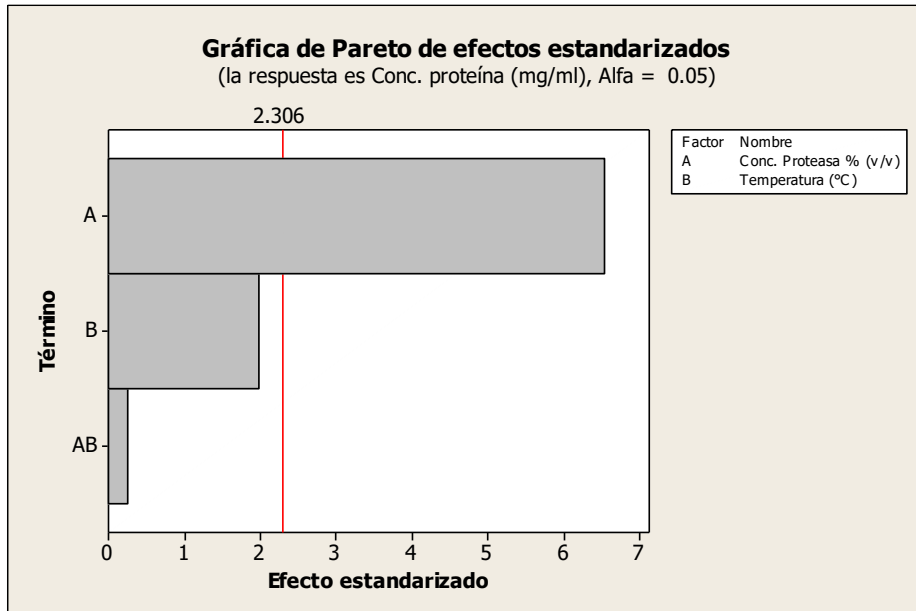
**Figura 29**

*Interacción de la temperatura y concentración en hidrolisis enzimática*



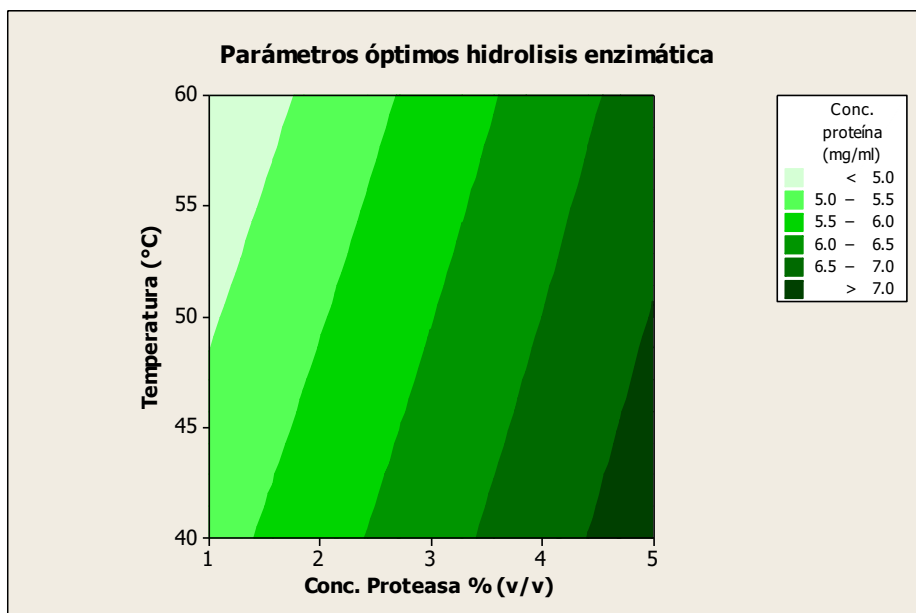
**Figura 30**

*Determinación del parámetro de mayor significancia de hidrólisis enzimática*



**Figura 31**

*Gráfica de contorno de parámetros óptimos de hidrólisis enzimática*



## B) Segunda etapa

La segunda etapa se trabajó con 2 g de cabello de niño (<1 cm), manteniendo fijos el tiempo de hidrólisis alcalina por 3 h, concentración de 0.5% p/v de Ca(OH)<sub>2</sub>, velocidad de agitación de 200 RPM, tiempo de hidrólisis enzimática 5 h y temperatura de hidrólisis enzimática de 40 °C.

La tabla 17 detalla los resultados obtenidos después de hidrolizar con proteasa las muestras tratadas con agente alcalino. Los resultados mostraron que a bajas temperaturas de hidrólisis enzimática (40 °C) y altas concentraciones de proteasa (5% v/v) se logra mejores resultados de proteína en el hidrolizado de queratina (7,29 mg/ml). La curva patrón usada en el método de Lowry para obtener estos resultados se muestran en la tabla 30 de anexos.

**Tabla 17**

*Resultados de optimización de la hidrólisis mixta*

N° Experimento	Réplica	Temperatura hidrólisis alcalina (°C)	Concentración Proteasa (%v/v)	Concentración del hidrolizado de queratina (mg/ml)	Promedio concentración del hidrolizado de queratina (mg/ml)
1	1	85	1	7.31	7.34
2	2	85	1	7.38	
3	1	85	5	11.18	11.05
4	2	85	5	10.92	
5	1	90	1	9.55	9.51
6	2	90	1	9.47	
7	1	90	5	11.24	11.49
8	2	90	5	11.73	
9	1	95	1	11.30	11.04
10	2	95	1	10.78	
11	1	95	5	12.05	12.11
12	2	95	5	12.16	

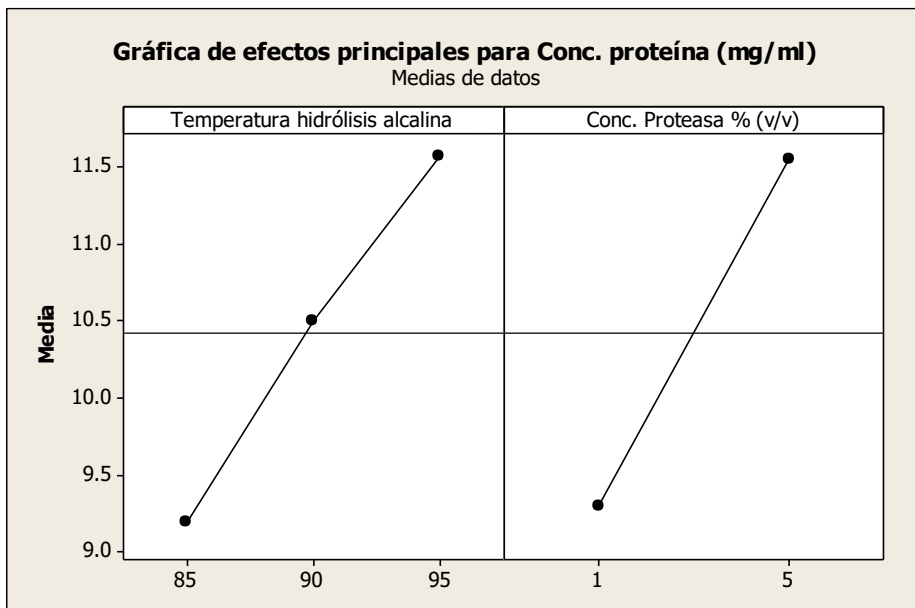
Al observar la figura 32 encontramos que a mayor temperatura en la hidrólisis alcalina y mayor concentración de proteasa se obtiene mayor cantidad de hidrolizado de queratina.

La figura 33 muestra las interacciones que presentan estos parámetros es significativa, siendo importante su influencia sobre el hidrolizado de queratina a obtener. Por otro lado, en la figura 34, se evidencia que el factor con mayor significancia estadística en el caso de hidrolisis mixta es la concentración de proteasa en comparación a la temperatura de hidrólisis alcalina.

Según la optimización de los parámetros de operación de la hidrólisis mixta se determinó que a temperaturas de 95 °C en el proceso de hidrolisis alcalina y a 5% v/v de concentración de proteasa en la hidrolisis enzimática se lograron las mayores concentraciones de proteína en el hidrolizado de queratina en promedio 12.11 mg/ml.

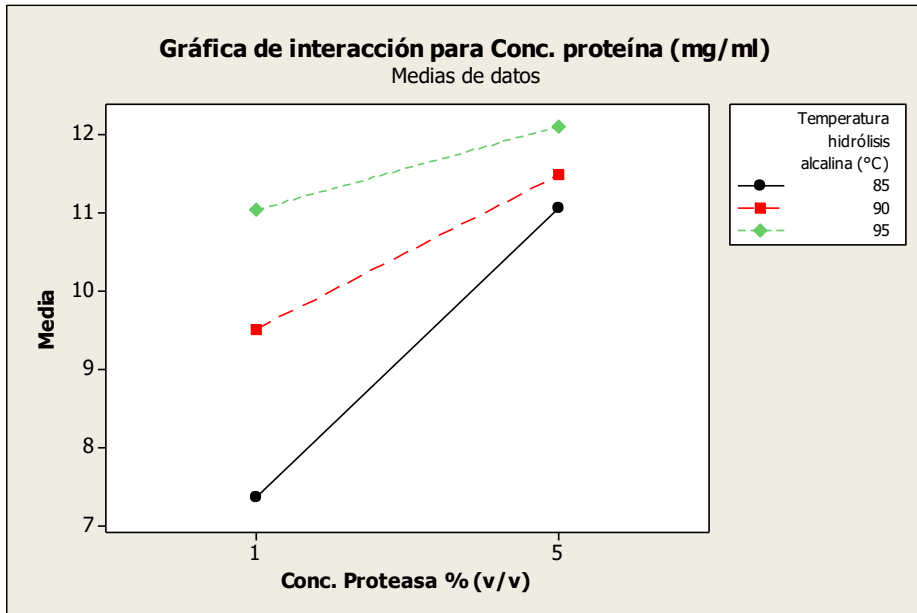
### Figura 32

*Efectos de la temperatura de etapa alcalina y concentración proteasa para la hidrólisis mixta*



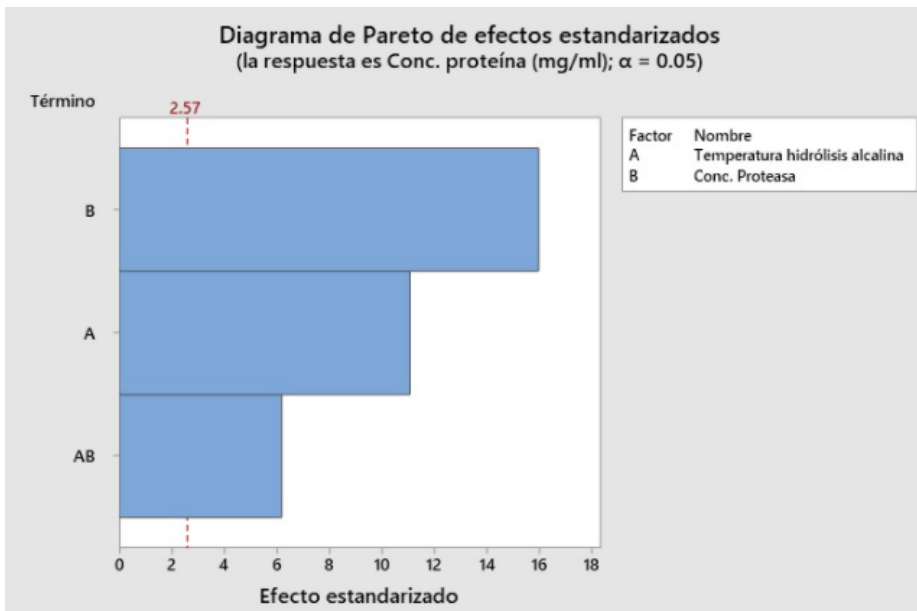
**Figura 33**

*Interacciones de parámetros en la hidrolisis mixta*



**Figura 34**

*Parámetro de mayor significancia en la hidrolisis mixta*



### 5.1.8 Rendimiento

- Cabello inicial (materia prima): 2 gramos
- Cantidad de queratina teórica en el cabello humano: 90% (Villa et al., 2013).
- Solución hidrolizante: 150 (inicialmente), después de sacar muestras de 5ml (8 tomas): 110 ml
- Concentración promedio de proteína obtenida después del proceso de hidrólisis mixta: 12.11 mg/mL
- Rendimiento del proceso de obtención de proteína:

$$\%R = \frac{12.11 \frac{mg}{mL} * 110ml}{2 g * 0.90 * 1000mg/1g} * 100\% = 74.0 \%$$

$$\%R = 74.0 \%$$

## 5.2 Resultados inferenciales

A fin de determinar si los efectos de los factores son significativos se usará el análisis de varianza.

### 5.2.1 Selección del agente alcalino hidrolizante

En la tabla 18 se presenta la comparación de medias de la concentración de proteína en cada tipo de hidrolizante mediante la prueba T de Student, se observa que no hay una diferencia significativa ( $p=0.907$ ) en los resultados de proteína del hidrolizado de queratina usando NaOH (1.15 mg/mL) y  $\text{Ca(OH)}_2$  (1.09 mg/mL) como agente hidrolizante. Se eligió trabajar con el hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$  por sus buenas propiedades.

**Tabla 18**

*Comparación de medias de la concentración de proteína (mg/ml) para cada tipo de agente alcalino, según prueba t-Student*

Hidrolizante	Número de muestras	Media	Desviación estándar	Significancia (p)
NaOH	8	1.15	0.84	0.907
Ca(OH) <sub>2</sub>	8	1.09	0.92	

### 5.2.2 Determinación de la concentración del agente alcalino hidrolizante

La cantidad de proteína obtenida a partir del cabello humano en este caso (controlada por pruebas de 2 factores) se describen mediante la ecuación lineal de la siguiente manera:

$$y = k + A.b_1 + B.b_2 + AB.b_{12}$$

Donde, A, B factores bajo observación durante la hidrólisis (A: temperatura en °C, B: concentración del agente alcalino Ca(OH)<sub>2</sub> en % p/v; AB, elemento de interacción; k, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>12</sub>, coeficientes de regresión. Al descomponer el cabello humano con la hidrólisis alcalina, la ecuación es la siguiente:

$$y = -2.664 + 0.05875A - 5.638B + 0.1675AB$$

El alto factor de correlación (R<sup>2</sup>=93.7%) indica que el 93.7% de la variabilidad de la respuesta observada (cantidad de proteína obtenida) explicada por los factores variables (A, B) se describen mediante la ecuación lineal presentada.

En la tabla 19 se muestra el análisis de varianza, se observa que la temperatura y la concentración del agente alcalino afectan significativamente (p<0.05) la concentración de proteína. Además, la interacción (temperatura-concentración agente alcalino) es estadísticamente significativa (p<0.05) entre estos factores. Para la selección de la concentración óptima del agente alcalino y temperatura de hidrólisis alcalina, se evaluó la gráfica de contorno de la superficie generada por la ecuación de predicción de la cantidad de queratina obtenida, la cual se

presenta en la figura 35, al examinar dicha gráfica se indica que la cantidad de proteína obtenida máxima se consigue con concentraciones de agente alcalino mayores y temperaturas mayores, eligiendo entonces una concentración de hidrolizado de queratina a una concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$  de 0.5% p/v y una temperatura de trabajo de 80 °C.

**Tabla 19**

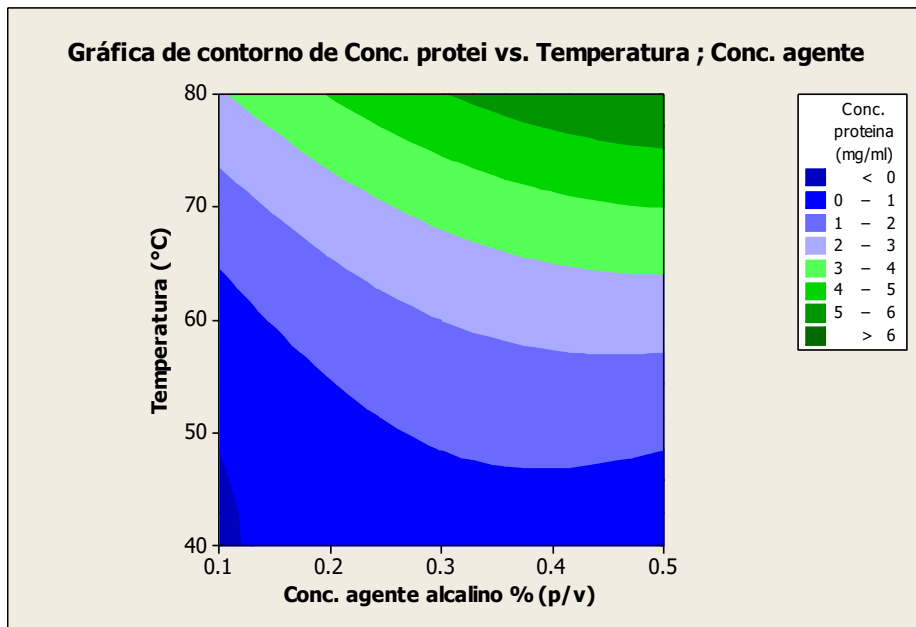
*Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para los factores temperatura y concentración de agente alcalino, según prueba F*

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
Factor A: Temperatura de hidrolisis alcalina	2	59.4416	59.4416	29.7208	1150.48	0.000
Factor B: Concentración agente alcalino	2	10.3291	10.3291	5.1645	199.92	0.000
Interacción AB	4	4.6298	4.6298	1.1575	44.80	0.000
Error	9	0.2325	0.2325	0.0258		
Total	17	74.6330				



**Figura 35**

*Gráfica de contorno de la concentración de proteína para los factores temperatura y concentración de agente alcalino*



### 5.2.3 Determinación de la velocidad de agitación

En la tabla 20 se presenta análisis de varianza para la comparación de medias variando las velocidades desde 200 RPM hasta 700 RPM (mostrados en la tabla 18), y se concluye que las medias de los tratamientos difieren, es decir, la velocidad de agitación afecta de manera significativa ( $p < 0.05$ ) a la cantidad de proteína obtenida.

**Tabla 20**

*Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para el factor velocidad de agitación, según prueba F*

Concentración de proteína	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p
Entre grupos	8.593	5	1.719	14.754	0.000
Dentro de grupos	1.398	12	0.116		
Total	9.991	17			

En la figura 24 vista anteriormente, se muestra los diagramas de cajas para la concentración de proteína con cada nivel de velocidad de agitación, y realizando comparaciones múltiples se puede observar que la velocidad de agitación de 200 RPM produce la cantidad de proteína máxima.

#### **5.2.4 Determinación de temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina**

La cantidad de proteína obtenida a partir del cabello humano en este caso (controlada por pruebas de 2 factores) se describen mediante la ecuación lineal de la siguiente manera: (en el modelo no se considera la interacción de los factores, pues según se evidenció en la figura 22, no existe interacción)

$$y = k + A.b_1 + B.b_2$$

Donde, A, B factores bajo observación durante la hidrólisis (A = temperatura en °C, B = tiempo de hidrolisis alcalina en horas; k, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, coeficientes de regresión. De esta manera, podemos afirmar que al descomponer el cabello humano con la hidrólisis alcalina, la ecuación es la siguiente:

$$y = -12.9199 + 0.17297A + 0.74093B$$

El factor de correlación ( $R^2 = 76.6\%$ ) indica que el 76.6% de la variabilidad de la respuesta observada (cantidad de proteína obtenida) explicada por los factores variables (A, B) se describen mediante la ecuación lineal presentada.

En la tabla 21 se muestra el análisis de varianza, se observa que la temperatura y el tiempo de hidrolisis alcalina afectan significativamente ( $p < 0.05$ ) a la concentración de proteína.

Para determinación de temperatura y tiempo óptimos de hidrólisis alcalina, se evaluó la gráfica de contorno de la superficie de respuesta generada por la ecuación de predicción de la cantidad de proteína obtenida, la cual se presenta en la figura 36, al examinar dicha gráfica se indica que la cantidad de proteína obtenida máxima se consigue con temperaturas altas y tiempos de hidrólisis a partir de tres horas, por lo que se resolvió trabajar a una temperatura de 95 °C y con un periodo 3 horas para la fase alcalina, para optimizar el proceso.

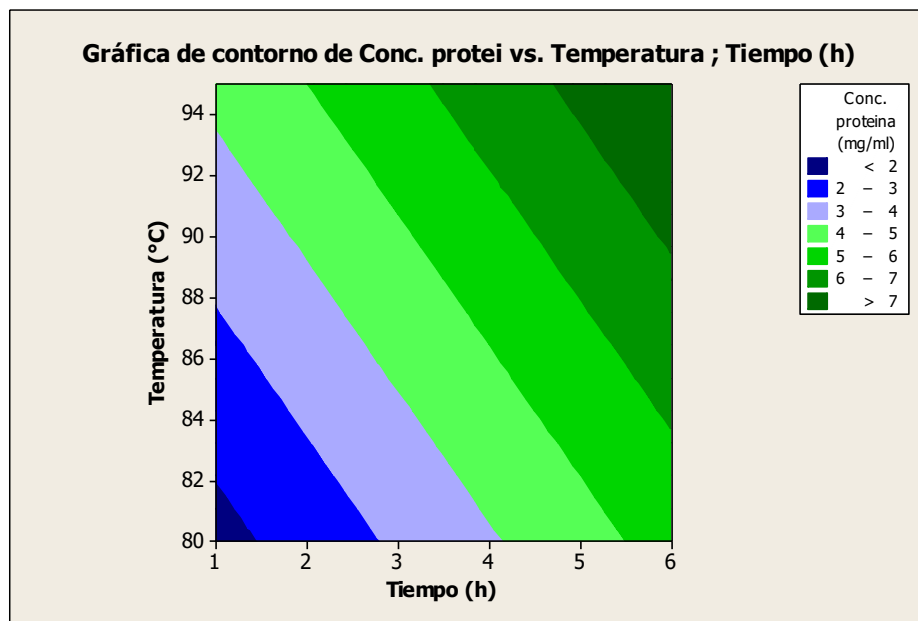
**Tabla 21**

*Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para los factores temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina, según prueba F*

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
Factor A: Temperatura de hidrólisis alcalina	3	23.1070	23.1070	7.7023	20.20	0.000
Factor B: Tiempo de hidrólisis alcalina	5	50.6062	50.6062	10.1212	26.54	0.000
Error	15	5.7208	5.7208	0.3814		
Total	23	79.4340				

**Figura 36**

*Gráfica de contorno de la concentración de proteína para los factores temperatura y tiempo de hidrólisis alcalina*



### 5.2.5 Determinación de parámetros óptimos de hidrólisis mixta

La cantidad de proteína obtenida a partir del cabello humano en este caso (controlada por pruebas de 2 factores) se describen mediante la ecuación lineal de la siguiente manera:

$$y = k + A.b_1 + B.b_2 + AB.b_{12}$$

Donde, A, B factores bajo observación durante la hidrólisis (A = concentración de proteasa en %v/v, B = temperatura en °C; AB elemento de interacción; k, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>12</sub>, coeficientes de regresión.

Al descomponer el cabello humano con la hidrólisis enzimática, la ecuación es la siguiente:

$$y = 6.30167 + 0.41833A - 0.0375B + 0.002AB$$

El alto factor de correlación ( $R^2=85.4\%$ ) indica que el 85.4% de la variabilidad de la respuesta observada (cantidad de proteína obtenida) explicada por los factores variables (A, B) se describen mediante la ecuación lineal presentada.

En la tabla 22 se muestra el análisis de varianza, se observa que solo la concentración de proteasa afecta significativamente ( $p<0.05$ ) la concentración de proteína, la temperatura no tiene un efecto significativo a un nivel de significancia de 0.05. Además, la interacción (concentración de proteasa-temperatura) no es estadísticamente significativa ( $p=0.807$ ), es decir no existe interacción entre los factores.

La figura 37 muestra los resultados obtenidos después de hidrolizar con proteasa las muestras tratadas con agente alcalino. Los resultados mostraron que a bajas temperaturas de hidrólisis enzimática (40 °C) y altas concentraciones de proteasa (5% v/v) se logra mejores resultados de proteína en el hidrolizado de queratina (7,29 mg/ml) vista, y que se muestra también en la figura 38 (gráfico de cubos, de las medias de los datos) donde se aprecia estos valores óptimos.

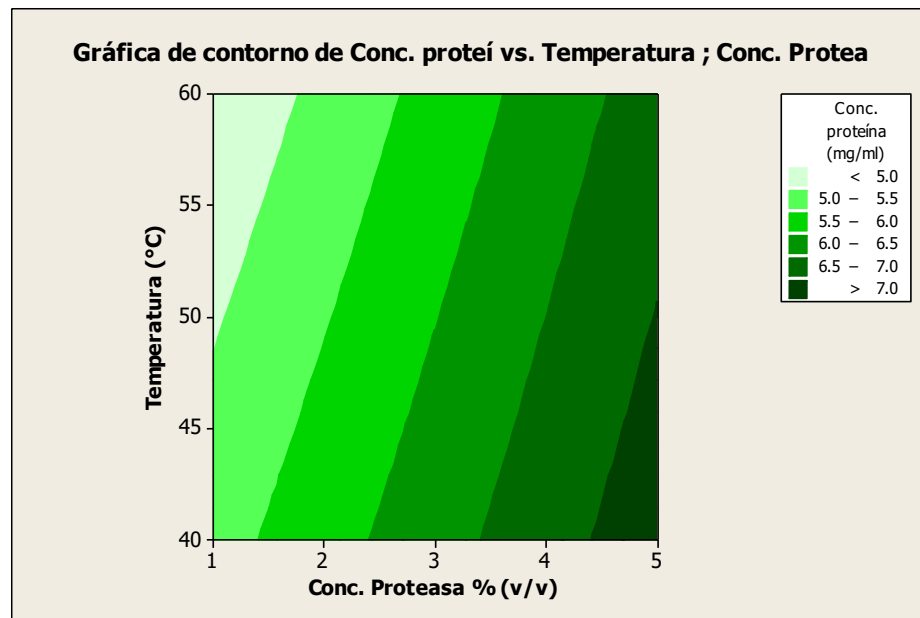
**Tabla 22**

*Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para los factores concentración de proteasa y temperatura de hidrolisis enzimática, según prueba F*

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
Factor A: Concentración de proteasa	1	12.8961	12.8961	12.8961	42.90	0.000
Factor B: Temperatura hidrolisis enzimática (°C)	1	1.1907	1.1907	1.1907	3.96	0.082
Interacción AB	1	0.0192	0.0192	0.0192	0.06	0.807
Error	8	2.4049	2.4049	0.3006		
Total	11	16.5110				

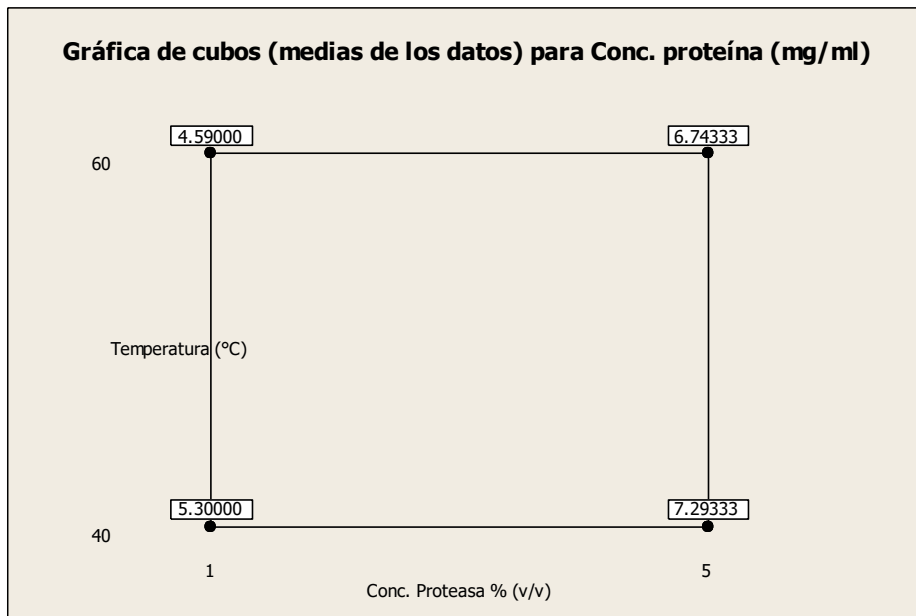
**Figura 37**

*Gráfica de contorno de la concentración de proteína para los factores concentración de proteasa y temperatura de hidrolisis enzimática*



**Figura 38**

*Gráfica de cubos (medias de los datos) de la concentración de proteína para los factores concentración de proteasa y temperatura de hidrolisis enzimática*



La cantidad de proteína obtenida a partir del cabello humano en este caso (controlada por pruebas de 2 factores) se describen mediante la ecuación lineal de la siguiente manera:

$$y = k + A.b_1 + B.b_2 + AB.b_{12}$$

Donde, A, B factores bajo observación durante la hidrólisis (A = temperatura de hidrólisis alcalina en °C, B = concentración de proteasa en %v/v; AB elemento de interacción; k, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, b<sub>12</sub>, coeficientes de regresión.

Al descomponer el cabello humano con la hidrólisis mixta, la ecuación es la siguiente:

$$y = - 30.459 + 0.4355A + 6.5021B - 0.066AB$$

El alto factor de correlación (R<sup>2</sup>=98.5%) indica que el 98.5% de la variabilidad de la respuesta observada (cantidad de proteína obtenida) explicada por los factores variables (A, B) se describen mediante la ecuación lineal presentada.

En la tabla 23 se muestra el análisis de varianza, se observa que la temperatura en hidrólisis alcalina y la concentración de proteasa afectan significativamente ( $p < 0.05$ ) la concentración de proteína. Además, la interacción (temperatura en hidrólisis alcalina-concentración de proteasa) es estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre estos factores.

Por otro lado, se evidencia que el factor con mayor significancia estadística en el caso de hidrolisis mixta es la concentración de proteasa en comparación a la temperatura de hidrólisis alcalina y la interacción entre estos 2 factores, ya que presenta un mayor valor estadístico F comparado con los otros.

En la figura 39 se muestra la gráfica de contorno de la superficie de respuesta generada por la ecuación de predicción de la cantidad de proteína obtenida, se observa que a mayor temperatura en la hidrólisis alcalina y mayor concentración de proteasa se obtiene mayor cantidad de hidrolizado de queratina, y las concentraciones máximas alcanzadas según la temperatura de hidrólisis alcalina y concentración de proteasa en la hidrólisis son superiores a los 12 mg/ml de concentración de proteína obtenida. Siendo las mayores concentraciones de hidrolizado de queratina, en promedio de 12.11 mg/ml, (ver también figuras 32 y 33).

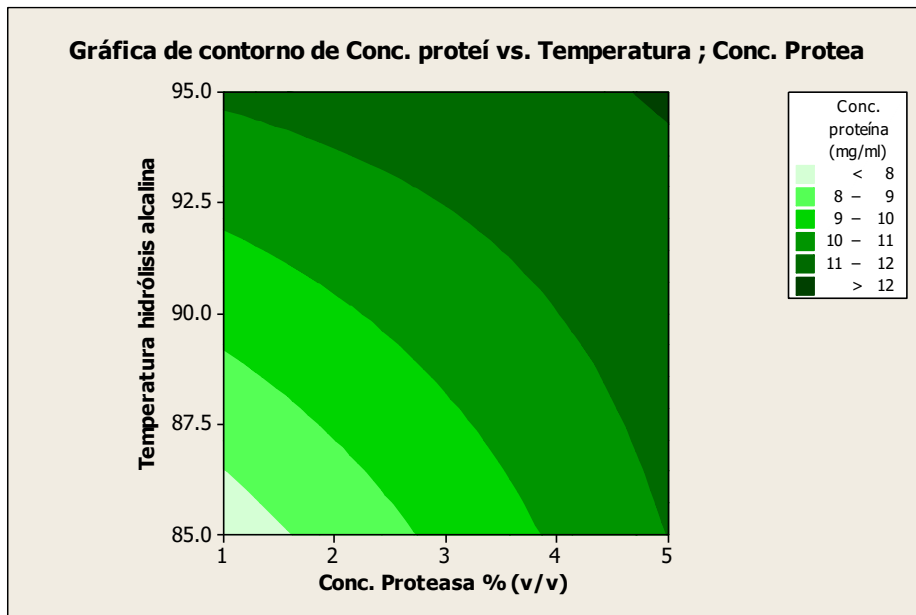
**Tabla 23**

*Análisis de varianza de la concentración de proteína (mg/ml) para el factor temperatura de etapa alcalina y concentración de proteasa de etapa enzimática, según prueba F*

Fuente	GL	SC sec.	SC ajust.	MC ajust.	F	P
Factor A: Temperatura de hidrólisis alcalina	2	11.3150	11.3150	5.6575	112.87	0.000
Factor B: Concentración de proteasa	1	15.1650	15.1650	15.1650	302.54	0.000
Interacción AB	2	3.5969	3.5969	1.7984	35.88	0.000
Error	6	0.3008	0.3008	0.0501		
Total	11	30.3776				

**Figura 39**

*Gráfica de contorno de la concentración de proteína para los factores temperatura en hidrólisis alcalina y la concentración de proteasa en hidrolisis enzimática*





## **VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

### **6.1 Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados**

Las hipótesis que se plantearon son:

#### **Hipótesis Específica**

- Las características del residuo de cabello humano generado en las peluquerías deben ser de un tamaño menor a 1 cm, sin tratamiento químico/térmico.

Las dimensiones de residuo de cabello humano utilizadas fueron de tamaño menor a 1 cm, esto con el fin de generar una mayor superficie de contacto para promover una mejor reacción, según la teoría de las reacciones químicas.

Se determinó que el tipo de cabello con una mayor cantidad de proteína era el de niño. Debido a esto, en los experimentos posteriores se utilizó como materia prima únicamente cabello de niño recolectado de la peluquería ARAMIS KIDS ubicada en Plaza San Miguel.

- La hidrólisis alcalina del cabello humano con hidróxido de calcio, al 0.5% p/v, 95 °C, 200 RPM por 3 horas de reacción, logra obtener hidrolizado de queratina con una concentración de proteína de 5 mg/mL.

Se determinaron que los parámetros óptimos de la hidrólisis alcalina fueron 95 °C, concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$ : 0.5% p/v y velocidad de agitación 200 RPM durante 3 horas de reacción, logrando obtener una concentración de hidrolizado de queratina de 7.04 mg/ml, superando el valor planteado en la hipótesis.

- La hidrólisis enzimática con proteasa al 5% v/v, 40 °C, 200 RPM por 5 horas, logra incrementar la concentración de proteína del hidrolizado alcalino hasta 10 mg/mL.

La hidrólisis enzimática con las condiciones descritas logró incrementar la concentración del hidrolizado de queratina desde 7.04 mg/mL hasta 12.11

mg/mL, superando el valor previsto.

### **Hipótesis General**

- La hidrólisis en condiciones óptimas garantiza un rendimiento del 60% en la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.

De acuerdo con las investigaciones realizadas por Villa et al. (2013) y Cruz et al. (2017), el porcentaje de queratina promedio en el cabello está entre 80 a 90%. Tomando el promedio de estos valores, calculamos el rendimiento de obtención de hidrolizado de queratina, tal y como se observa en el punto “H” de resultados. El rendimiento de nuestro proceso de hidrólisis mixta fue de 74.0%, usando los residuos de cabello de niños como material queratinoso, superando el valor planteado en la hipótesis.

### **6.2 Contrastación de los resultados con otros estudios similares**

Suárez (2017) en su trabajo de titulación, realizó una hidrólisis alcalina al residuo de cabello humano, obteniendo una concentración de proteína en el hidrolizado de queratina de 7,53 mg/ml, utilizando como agentes hidrolizantes sulfuro de sodio 0.45 M y 3.08 ml de peróxido de hidrógeno al 30% durante 4 horas de reacción. En el presente trabajo, no se utilizó sulfuro de sodio por su alta toxicidad ya que, al ser una base fuerte, libera la melanina del cabello contaminando el hidrolizado de queratina obtenido. En su reemplazo, se realizó una hidrólisis alcalina-enzimática y se usaron como agentes hidrolizantes el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  al 0.5% p/v y la proteasa al 5% v/v obteniendo una concentración de proteína en el hidrolizado de queratina de 12.11 mg/ml.

Por otro lado, Villa et al. (2013), realizó una hidrólisis enzimática a las plumas de pollo como material queratinoso con *Bacillus subtilis* durante 5 días de incubación a 28°C, llegando a obtener una concentración de 1.53 mg/mL de proteína en el hidrolizado de queratina y un rendimiento del 42.8% del total de la proteína teórica. En contraste, la presente investigación usó residuo de cabello humano por su alta disponibilidad y potencial de reaprovechamiento que viene

siendo desarrollado por diferentes investigadores. El rendimiento obtenido con residuos de cabello humano, aplicando una hidrólisis alcalina-enzimática, fue de 74.0% relativo al total de proteína contenido en el cabello.

(Vega, 2014) realizó una hidrólisis alcalina al pelambre vacuno en una relación de 6 g de pelambre/150 mL de solución de  $\text{Ca(OH)}_2$  con una concentración del hidrolizante de 2% p/v, temperatura de 90 °C y 8 horas de reacción, obteniendo un porcentaje de conversión de 49.81% y concentración de proteína total en el líquido hidrolizado de 17.8 mg/ml determinado por el método de Kjeldhal. A raíz de estos buenos resultados, nos basamos en estas condiciones de hidrólisis alcalina (tipo de agente hidrolizante y temperatura) para hidrolizar 2 g de residuo de cabello humano/150ml de solución de  $\text{Ca(OH)}_2$  al 0.5% p/v, temperatura 95 °C por 3 horas de reacción, adicionando una etapa de hidrólisis enzimática con proteasa comercial para poder obtener un mayor rendimiento de hidrólisis (74.0%) y concentración de proteína en el hidrolizado de queratina (12.11 mg/ml) determinada por el método de Lowry.

Krejci et al. (2011) en su investigación realizaron una hidrólisis alcalina-enzimática de lana de oveja, la cual tomamos como referencia del tipo de hidrólisis para nuestra tesis. Dichos autores en su etapa alcalina utilizaron como agente hidrolizante el  $\text{Ca(OH)}_2$  al 0.6% p/v durante 24 horas de reacción a 80 °C; nosotros trabajamos con menor concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$  (0.5% p/v), menor tiempo de reacción (3 horas) pero mayor temperatura (95 °C), dado que previamente determinamos que la variable con mayor significancia en la etapa alcalina era esta última. En la etapa enzimática desarrollada por estos autores, usaron la Esperasa 6.0 T como agente hidrolizante a una concentración de 0.33 %p/v durante 24 horas a una temperatura de 60 °C, obteniendo como resultado final de ambas etapas de hidrólisis un porcentaje de degradación de la lana de oveja del 59.2 %. En la presente investigación se trabajó con una etapa enzimática más corta (5 horas), con la enzima proteasa al 5% p/v a una temperatura de 40 °C, ya que se determinó que en este caso la variable de mayor significancia era la concentración de agente hidrolizante, como resultado de ambas etapas de hidrólisis conseguimos un rendimiento del 74%.

Finalmente, en las tesis de Coba & Rodriguez (2018), Chuquimango (2019) y Benites (2020) de la Universidad César Vallejo, se obtuvieron porcentajes de obtención de queratina de 28.33%, 27.33% y 25.67% respectivamente mediante una hidrólisis alcalina utilizando hidróxido de calcio al 0.3 N, temperatura de 70 °C, velocidad de agitación de 400 RPM y 6 horas de reacción. En el caso de la presente investigación, se obtuvo un mejor resultado de porcentaje de obtención de queratina con un valor 74% a través de la hidrólisis mixta (alcalina-enzimática), que no solo presentó mejora en los resultados de obtención sino en ser más eco amigable con el medio ambiente por el uso de enzimas.

**Tabla 24**

*Comparación de parámetros usados por otros autores*

Autores	PARÁMETROS USADOS										
	Material Queratinoso	ETAPA ALCALINA				ETAPA ENZIMÁTICA			Tiempo total de reacción (h)	Cantidad de proteína obtenida (mg/ml)	Rendimiento / Conversión (%)
		Material Queratinoso / Volumen de solución hidrolizante (g/ml)	Agente hidrolizante	Concentración de agente hidrolizante (% p/v)	Temperatura de reacción (°C)	Agente hidrolizante enzimático	Concentración de agente hidrolizante (% p/v)	Temperatura de reacción (°C)			
Erazo et al (2022)	Residuo de cabello humano	2/150	Ca(OH) <sub>2</sub>	0.50	95.00	Proteasa	5.00	40.00	8.00	12.11	74.00
Vega (2014)	Pelambre de vacuno	4/100	Ca(OH) <sub>2</sub>	2.00	90.00	No aplica			8.00	17.80	49.81
Suárez (2017)	Residuo de cabello humano	5/100	Na <sub>2</sub> S	3.51	40.00	No aplica			4.00	7.53	No aplica
Villa et al. (2013)	Plumas de pollo	1/100	No aplica			<i>Bacillus Subtilis</i>	10 <sup>8</sup> células/ml	28.00	120.00	1.53	42.80

### **6.3 Responsabilidad ética**

Los autores de la presente investigación se responsabilizan por la información emitida en el presente informe, de acuerdo con el Reglamento del Código de Ética de la investigación de la Universidad Nacional del Callao a través de la Resolución del Consejo Universitario N° 260-2019-CU.

## CONCLUSIONES

Las condiciones para obtener queratina a partir de residuos de cabello humano generado en las peluquerías se dan mediante la hidrólisis mixta de cabello de niños, llevándose a cabo con una primera etapa de hidrólisis alcalina usando  $\text{Ca(OH)}_2$  como agente hidrolizante y una segunda etapa de hidrólisis enzimática usando proteasa comercial como agente hidrolizante.

Se determinó que el residuo de cabello humano de niños generado en las peluquerías es la mejor materia prima para obtener una mayor cantidad de proteína en el hidrolizado de queratina, obteniendo un rendimiento del 74% comparado con residuos de cabellos de mujer y varón adultos.

Se determinó que las mejores condiciones de hidrólisis alcalina para la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano de niño son: temperatura de 95 °C, concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$  0.5% p/v, velocidad de agitación de 200 RPM, durante 3 horas de reacción se logra obtener una concentración de proteína de 7.04 mg/mL en el hidrolizado de queratina.

Se determinó que las mejores condiciones de hidrólisis enzimática que incrementan la concentración de proteínas de los hidrolizados alcalinos, para la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano de niño son: temperatura de 40 °C, concentración de proteasa 5% v/v, manteniendo velocidad de agitación de 200 RPM por 5 horas de reacción, lo logra aumentar la concentración de proteína hasta 12.11 mg/mL en el hidrolizado de queratina.

## **RECOMENDACIONES**

Realizar estudios para aprovechar la melanina (pigmento) obtenida al realizar la hidrólisis del cabello humano con hidróxido de sodio.

Desarrollar estudios posteriores sobre la aplicación del hidrolizado de queratina como materia prima para la formulación de productos cosméticos como shampoos, acondicionadores, entre otros.

Concentrar el hidrolizado de queratina por evaporación para disminuir el crecimiento microbiano y conservar por más tiempo el hidrolizado obtenido.

Escalar a un piloto el proceso de hidrólisis mixta, para poder obtener una mayor cantidad de proteína en el hidrolizado de queratina y así comercializarla, ya que es una materia prima muy valorada en la industria cosmética.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ávila, S. L., Nieto, M. S., Jiménez, D. C., & Osorio, J. C. (2011). *Análisis del impacto generado en un Sistema de Gestión Integral de Residuos Sólidos por el aumento de los residuos asociados al crecimiento de la población a través de Dinámica de Sistemas*. [https://www.urosario.edu.co/urosario\\_files/PortalUrosario/f4/f49dd4da-d09e-49bd-9af9-882bec755eec.pdf](https://www.urosario.edu.co/urosario_files/PortalUrosario/f4/f49dd4da-d09e-49bd-9af9-882bec755eec.pdf)
- Benites, A. (2020). *Influencia del hidróxido de calcio en la elaboración de queratina de pelo del ganado vacuno extraído de la curtiembre*. Universidad Cesar Vallejo.
- Benítez, R., Ibarz, A., Pagan, J., Bioquímica, A., & Latinoamericana, C. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 42(2), 227–263. [https://www.researchgate.net/publication/262552066\\_Hidrolizados\\_de\\_proteina\\_Procesos\\_y\\_aplicaciones?enrichId=rgreq-47b90cc5-f5da-4240-8ea2-82b349ee3e87&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzI2MjU1MjA2NjtBUzoxMTA0Mzg0MjM0NzAwODBAMTQwMzM0MTE3MQ%3D%3D&el=1\\_x\\_3](https://www.researchgate.net/publication/262552066_Hidrolizados_de_proteina_Procesos_y_aplicaciones?enrichId=rgreq-47b90cc5-f5da-4240-8ea2-82b349ee3e87&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzI2MjU1MjA2NjtBUzoxMTA0Mzg0MjM0NzAwODBAMTQwMzM0MTE3MQ%3D%3D&el=1_x_3)
- Bergfeld, W. F., Donald, F. A. C. P., Belsito, V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., Marks, J. G., Shank, R. C., Slaga, T. J., Snyder, P. W., & The, D. V. M. (2016). *Safety Assessment of Keratin and Keratin-Derived Ingredients as Used in Cosmetics The 2016 Cosmetic Ingredient Review Expert Panel members are: Chairman*. <https://www.cir-safety.org/sites/default/files/keratin.pdf>
- Bradbury, J. H. (1973). *The structure and chemistry of keratin fibers*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065323308604477>
- Bragulla, H. H., & Homberger, D. G. (2009). Structure and functions of keratin proteins in simple, stratified, keratinized and cornified epithelia. *Journal of Anatomy*, 214(2), 516–559. <https://doi.org/10.1111/j.1469->

7580.2009.01066.x

- Brunswick, N. (2012). The Study of Hair. *National Geographic Learning*.  
[https://ngl.cengage.com/assets/downloads/forsci\\_pro0000000541/4827\\_fun\\_ch3.pdf](https://ngl.cengage.com/assets/downloads/forsci_pro0000000541/4827_fun_ch3.pdf)
- Buffoli, B., Rinaldi, F., Labanca, M., Sorbellini, E., Trink, A., Guanziroli, E., Rezzani, R., Rodella, L. F., Rinaldi, S., & Correspondence Luigi Rodella, I. F. (2014). The human hair: from anatomy to physiology. *The International Society of Dermatology*, 53, 331–341. <https://www.maurolabanca.com/wp-content/uploads/2018/11/Labanca-2014.pdf>
- Bustamante, Y. (2014). Gestión de residuos sólidos biodegradables para el logro de la ecoeficiencia en la universidad. *Rev. de Investigación de La Fac. de Ciencias Administrativas. UNMSM*. 17(2), N° 34, 17–II, N°(2011), 73–79. <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/administrativas/articulo/download/11696/10486/40807>
- Cavello, I. A., Hours, R. A., Rojas, N. L., & Cavalitto, S. F. (2013). Purification and characterization of a keratinolytic serine protease from *Purpureocillium lilacinum* LPS # 876. *Process Biochemistry*, 48(5–6), 972–978. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.03.012>
- Chang, R. (2010). *Química* (E. Pablo, Ed.; 10th ed.). The McGraw-Hill Companies.
- Chuquimango, J. (2019). *Influencia de la concentración del hidróxido de calcio y peso del pelo vacuno de residuos de curtiembre para la obtención de queratina*. Universidad Cesar Vallejo.
- Coba, E., & Rodriguez, T. (2018). *Efecto de la concentración de hidróxido de calcio en la obtención de queratina de pelo vacuno de la Curtiembre Ecológica del Norte E.I.R.L.* Universidad Cesar Vallejo.
- Coulombe, P. A., & Omary, M. B. (2002). “Hard” and “soft” principles defining the structure, function and regulation of keratin intermediate filaments. *Current*

*Opinion in Cell Biology*, 14(1), 110–122. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(01\)00301-5](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(01)00301-5)

- Cruz, C. F., Azoia, N., Matamá, T., & Cavaco-Paulo, A. (2017). Peptide—protein interactions within human hair keratins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 805–814. <https://doi.org/http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.03.052>
- Das, Gitishree., & Prasad, M. P. (2010). Isolation, purification & mass production of protease enzyme from bacillus subtilis. *International Research Journals*, 1(2), 26–31. [https://www.researchgate.net/publication/267303044\\_Isolation\\_purification\\_and\\_mass\\_production\\_of\\_protease\\_enzyme\\_from\\_Bacillus\\_subtilis](https://www.researchgate.net/publication/267303044_Isolation_purification_and_mass_production_of_protease_enzyme_from_Bacillus_subtilis)
- Fernández-D'arlas, B., Peña-Rodríguez, C., & Eceiza, A. (2016). Extracción de la queratina de la lana de oveja “latxa.” *Rev. Iberoam. Polímeros*, 17(3), 110–121. <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/07/2016-borja.pdf>
- Garrote, A., Ramon Bonet B, A. Y., Doctor, A. F. B., & Farmacia, E. N. (2008). Alteraciones del cabello y del cuero cabelludo Cosmética capilar de tratamiento. *Offarm*, 27(3), 72–78. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-alteraciones-del-cabello-del-cuero-13116881>
- Gillespie, J. M. (1990). The Proteins of Hair and Other Hard a-Keratins. In *CSIRO*. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4757-9604-9\\_4](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4757-9604-9_4)
- Goddard, D. R., & Michaelis, L. (1934). A study on keratin. *J. Biol. Chem.*, 106, 605–614. <https://www.semanticscholar.org/paper/A-STUDY-ON-KERATIN-Goddard-102-Michaelis/aec6d80b8f35636131de065c1cca92cf8dff3f53>
- Gonzales, E. (2016). *Influencia de la cocentración de hidróxido de sodio y la temperatura en la extracción de queratina del residuo de pelo de Inversiones Harod S.A.C.* Universidad Cesar Vallejo.
- Gousterova, A., Braikova, D., Goshev, I., Christov, P., Tishinov, K., Vasileva-Tonkova, E., Haertlé, T., & Nedkov, P. (2005). Degradation of keratin and

collagen containing wastes by newly isolated thermoactinomycetes or by alkaline hydrolysis. *Letters in Applied Microbiology*, 40(5), 335–340. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01692.x>

Grau, M. D., & Gorchs, R. (2007). *Técnicas básicas de experimentación en química en formato digital*. [https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/6657/tecnicas\\_basicas\\_experimentacion.pdf](https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/6657/tecnicas_basicas_experimentacion.pdf)

Guadix, A. ;, Guadix, E. M. ;, Páez-Dueñas, M. P. ;, González-Tello, P. Y., & Camacho, F. (2000). Technological processes and methods of control in the hydrolysis of proteins. *Ars Pharmaceutica*, 41(1), 79–89. [https://www.researchgate.net/publication/236217209\\_Procesos\\_Tecnologicos\\_y\\_metodos\\_de\\_control\\_en\\_la\\_hidrolisis\\_de\\_proteinas](https://www.researchgate.net/publication/236217209_Procesos_Tecnologicos_y_metodos_de_control_en_la_hidrolisis_de_proteinas)

Gupta, A. (2014). Human Hair “Waste” and Its Utilization: Gaps and Possibilities. *Journal of Waste Management*, 2014, 1–17. <https://doi.org/10.1155/2014/498018>

Jácome, G. (2013). *Elaboración de compost utilizando cabello humano y aplicando dos fuentes de microorganismos: Microorganismos Eficientes (EMs) y Trichoderma spp, como agentes aceleradores de compostaje* [Universidad Politécnica Estatal del Carchi]. <http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/29/1/123%20ELABORACI%C3%92N%20DE%20COMPOST%20UTILIZANDO%20CABELLO%20HUMANO%20Y%20APLICANDO%20DOS%20FUENTES%20DE%20MICROORGANISMOS%20EFICIENTES%20%28%20EMs%29%20-%20J%C3%80COME%20SARCHI%20C%20GUILLERMO.pdf>

Johnstone, M., & Albert, D. (2002). Prostaglandin-Induced hair growth. *Survey of Ophthalmology*, 47(1), 185–202. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039625702003077>

Jones, L. N. (2001). Hair structure anatomy and comparative anatomy. *Clinics in*

- Dermatology*, 19(2), 95–103.  
[https://www.researchgate.net/publication/11941215\\_Hair\\_structure\\_anatomy\\_and\\_comparative\\_anatomy](https://www.researchgate.net/publication/11941215_Hair_structure_anatomy_and_comparative_anatomy)
- Kadir, M., Wang, X., Zhu, B., Liu, J., Harland, D., & Popescu, C. (2017). The structure of the “amorphous” matrix of keratins. *Journal of Structural Biology*, 198(2), 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2017.04.001>
- Karthikeyan, R., Balaji, S., & Sehgal, P. K. (2007). Industrial applications of keratins-A review. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 66, 710–715. [https://www.researchgate.net/publication/228583971\\_Industrial\\_applications\\_of\\_keratins-A\\_review](https://www.researchgate.net/publication/228583971_Industrial_applications_of_keratins-A_review)
- Krejci, Ondrej., Mokrejs, P., & Sukop, S. (2011). Preparation and Characterization of Keratin Hydrolysates. *Mathematical Methods and Techniques in Engineering and Environmental Science*, 308–311. <http://www.wseas.us/e-library/conferences/2011/Catania/Catania-53.pdf>
- Lange, L., Huang, Y., & Busk, P. K. (2016). Microbial decomposition of keratin in nature—a new hypothesis of industrial relevance. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 100, Issue 5, pp. 2083–2096). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7262-1>
- Lazaro Palomino, Jasmine. (2018). *Evaluación de la capacidad de degradación de residuos agrícolas utilizando bacterias celulolíticas y xilanolíticas, como alternativas de tecnología limpia* [Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo”]. <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/2012>
- Marshall, R. C., Orwin, D. F. G., & Gillespie, J. M. (1991). Structure and biochemistry of mammalian hard keratin. *Electron Microsc. Rev*, 4, 47–50. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0892035491900166>
- Meyers, M. A., Chen, P. Y., Lin, A. Y. M., & Seki, Y. (2008). Biological materials: Structure and mechanical properties. *Progress in Materials Science*, 53(1), 1–206. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2007.05.002>

- Mokrejs, P., Krejci, O., Svoboda, P., & Vasek, V. (2011). Modeling technological conditions for breakdown of waste sheep wool. *RASAYAN J. Chem.*, 4(4), 728–735. <http://www.rasayanjournal.com>
- Navone, L., & Speight, R. (2020). Enzymatic removal of dags from livestock: an agricultural application of enzyme technology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(13), 5739–5748. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10656-2>
- Pardo, Y., & Rogel, J. (2015). *Obtención de queratina partiendo de hidrolizado de harina de plumas de pollo, para elaborar una crema aislante de cabello* [Universidad Técnica de Machala]. <https://revistas.ugca.edu.co/index.php/ugciencia/article/download/767/1176/>
- Qiu, J., Wilkens, C., Barrett, K., & Meyer, A. S. (2020). Microbial enzymes catalyzing keratin degradation: Classification, structure, function. *Biotechnology Advances*, 44, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107607>
- Ramnani, P., & Gupta, R. (2007). Keratinases vis-à-vis conventional proteases and feather degradation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 1537–1540. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-007-9398-3>
- Randall, V. A., & Botchkareva, N. v. (2009). The Biology of Hair Growth. In *Cosmetic Applications of Laser and Light-Based Systems* (pp. 3–35). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-8155-1572-2.50006-3>
- Rogers, M. A., Langbein, L., Praetzel-Wunder, S., Winter, H., & Schweizer, J. (2006). Human Hair Keratin-Associated Proteins (KAPs). *International Review of Cytology*, 251, 209–263. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(06\)51006-X](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(06)51006-X)
- Salazar, M. (2013). *Determinación del método para la obtención de queratina*

*cosmetica a partir de plumas gallinaceas* [Universidad Central del Ecuador].  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/1088>

Sierra, V., Azabache, M. P., Agudelo, R. N., & Hernández, J. A. (2019). Evaluación de la Hidrólisis enzimática de plumas de pollo para la obtención de Queratina. *Revista Politécnica*, 15(30), 17–24.  
<https://doi.org/10.33571/rpolitec.v15n30a2>

SINIA. (2016). *Indicador: Generación de residuos sólidos en Lima Metropolitana*.  
<https://sinia.minam.gob.pe/indicador/1007>

Staroń, P., Banach, M., Kowalski, Z., & Staroń, A. (2014). Hydrolysis of keratin materials derived from poultry industry. *Proceedings of ECOpole*, 8(2), 443–448. [https://doi.org/10.2429/proc.2014.8\(2\)050](https://doi.org/10.2429/proc.2014.8(2)050)

Suárez, O. (2017). *Obtención de queratina a partir de cabello humano para la formulación de un producto cosmético* [Universidad Central del Ecuador].  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/11528/1/T-UCE-0017-0031-2017.pdf>

Vega, L. (2014). *Reaprovechamiento del residuo queratinoso del proceso de pelambre como fuente de aminoácidos por hidrólisis alcalina con hidróxido de calcio* [Universidad Nacional Agraria La Molina].  
<https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/1901>

Villa, A. L. V., Aragão, M. R. S., dos Santos, E. P., Mazotto, A. M., Zingali, R. B., de Souza, E. P., & Vermelho, A. B. (2013). Feather keratin hydrolysates obtained from microbial keratinases: Effect on hair fiber. *BMC Biotechnology*, 13, 2–11. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-13-15>

Yang, F. C., Zhang, Y., & Rheinstädter, M. C. (2014). The structure of people's hair. *PeerJ*, 619(1), 1–19. <https://doi.org/10.7717/peerj.619>

Yu, Y., Yang, W., & André Meyers, M. (2017). Viscoelastic properties of  $\alpha$ -keratin fibers in hair. *Acta Biomaterialia*, 64, 15–28.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.09.012>

## **ANEXOS**



## Anexo 1- Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADOR
<p><b>General</b> ¿Cuáles son las condiciones de hidrólisis para la obtención queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías?</p>	<p><b>General</b> Determinar las condiciones de hidrólisis para la obtención queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.</p>	<p><b>General</b> La hidrólisis en condiciones óptimas garantiza un rendimiento del 60% en la obtención de hidrolizado de queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.</p>	<p><b>Variable dependiente</b>  Y= Hidrolizado de queratina</p>	<p>Y1 Concentración del hidrolizado de queratina  Y2 Rendimiento</p>	<p>Y1.1 Peso de proteína por volumen de hidrolizado de queratina.  Y2.1 % de hidrolizado de queratina obtenida (hidrolizado de queratina obtenida/hidrolizado de queratina teórica).</p>
<p><b>Específico</b> ¿Cuáles son las características del residuo de cabello humano para el proceso de hidrólisis generado en las peluquerías?</p>	<p><b>Específico</b> Determinar las características del residuo de cabello humano para el proceso de hidrólisis generado en las peluquerías.</p>	<p><b>Específica</b> Las características del residuo de cabello humano deben tener un tamaño menor a 1 cm, sin tratamiento químico/térmico y de color uniforme los que son generados en las peluquerías.</p>	<p><b>Variables independientes</b>  X1 = Residuo de cabello humano</p>	<p>X1.1 Tipo de cabello</p>	<p>X1.1.1 Sexo X1.1.2 Edad</p>
<p>¿Cuáles son las mejores condiciones de hidrólisis alcalina para la obtención de queratina hidrolizada a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías?</p>	<p>Determinar las mejores condiciones de hidrólisis alcalina para la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.</p>	<p>La hidrólisis alcalina del cabello humano con hidróxido de calcio, al 0.5% p/v, 95 °C, 200 RPM por 3 horas de reacción, logra obtener queratina hidrolizada con una concentración de proteína</p>	<p>X2 = Hidrólisis alcalina</p>	<p>X2.1 Características del hidrolizante.  X2.2 Parámetros de hidrólisis alcalina</p>	<p>X2.1.1 Ca(OH)<sub>2</sub> X2.1.2 Concentración  X2.2.1 Temperatura X2.2.2 Velocidad de agitación X2.2.3 Tiempo de reacción</p>

peluquerías?		de 5 mg/mL.				
¿Cuáles son las condiciones de hidrólisis enzimática que incrementen la concentración de proteínas de los hidrolizados alcalinos, para la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías?	Determinar las condiciones de hidrólisis enzimática que incrementen la concentración de proteínas de los hidrolizados alcalinos, para la obtención de queratina a partir del residuo de cabello humano generado en las peluquerías.	las de	La hidrólisis enzimática con proteasa al 5% v/v, 40 °C, 200 RPM por 5 horas, logra incrementar la concentración de proteína de los hidrolizados alcalinos hasta 10 mg/mL.	X3 = Hidrólisis enzimática	X3.1 Enzima	X3.1.1 Proteasa X3.1.2 Concentración
					X3.2 Parámetros de hidrolisis enzimática	X3.2.1 Temperatura X3.2.2 Velocidad de agitación X3.2.3 Tiempo de reacción

## Anexo 2 – Ficha técnica de residuos de cabello humano

<b>FICHA TÉCNICA DE RESIDUOS DE CABELLO HUMANO</b>		VERSIÓN 1
<b>PRODUCTO</b>	Cabello humano/ Human hair	
<b>DESCRIPCIÓN</b>	El cabello es una continuación del cuero cabelludo, formada por una fibra de queratina y constituido por una raíz y un tallo. Se forma en un folículo de la dermis, y constituye el rasgo característico de la piel delgada fina.	
<b>DISPONIBILIDAD</b>	Constante	
<b>ALMACENAMIENTO</b>	Envases con sellado hermético A temperatura ambiente Poca luz	
<b>PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS</b>	PARAMETRO	VALOR ESTIMADO
	% Proteínas	65 – 95
	% Humedad	Hasta 32
	% Ceniza	0.5 – 0.94
	Densidad (g/cc)	1.25 – 1.30
	pH	4.5 – 5.5
<b>CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS</b>	COLOR	Oscuro, de preferencia negro (no canas ni tinción ni tratamiento químico o térmico)
	FORMA	Con y sin rizos
<b>OTRAS CARACTERÍSTICAS</b>	LONGITUD	<1 cm
	GROSOR	Grueso o delgado

### Anexo 3 – Curvas de calibración en análisis de espectrofotometría

Se presentan las curvas de calibración de concentración de muestra patrón de queratina (albumina de suero bovino) vs absorbancia, las cuales fueron usadas en el método de Lowry para definir la concentración de cada etapa de las pruebas. Dilución 20, significa la dilución en 20 veces el volumen del hidrolizado de queratina obtenida en cada corrida.

**Tabla 25**

*Curva de calibración para selección de tipo de cabello*

Nº Punto	X Concentración (mg/mL)	Y Absorbancia
1	0.05	0.019
2	0.10	0.040
3	0.25	0.100
4	0.4	0.166
5	0.6	0.243

Ecuación:  $Y = X \cdot 0.4066$   
 $R^2 = 0.9998$ ; Dilución=20

**Tabla 26**

*Curva de calibración para selección de agente alcalino hidrolizante*

Nº Punto	X Concentración (mg/mL)	Y Absorbancia
1	0.05	0.080
2	0.10	0.124
3	0.25	0.255
4	0.4	0.386
5	0.6	0.561

Ecuación:  $Y = X \cdot 0.8746 + 0.0362$   
 $R^2 = 0.9999$ ; Dilución=20

**Tabla 27***Curva de calibración para determinar la concentración de agente alcalino*

N° Punto	X	Y
	Concentración (mg/mL)	Absorbancia
1	0.05	0.035
2	0.10	0.049
3	0.25	0.092
4	0.4	0.136
5	0.6	0.193
Ecuación: $Y = X \cdot 0.2870 + 0.0207$ $R^2 = 0.9999$ ; Dilución=20		

**Tabla 28***Curva de calibración para determinar la velocidad de agitación*

N° Punto	X	Y
	Concentración (mg/mL)	Absorbancia
1	0.05	0.083
2	0.10	0.120
3	0.25	0.232
4	0.4	0.344
5	0.6	0.494
Ecuación: $Y = X \cdot 0.7478 + 0.0453$ $R^2 = 0.9999$ ; Dilución=20		

**Tabla 29**

*Curva de calibración para determinar la temperatura y tiempo de hidrolisis alcalina*

Nº Punto	X Concentración (mg/mL)	Y Absorbancia
1	0.05	0.078
2	0.10	0.106
3	0.25	0.187
4	0.4	0.270
5	0.6	0.379

Ecuación:  $Y = X \cdot 0.5468 + 0.0508$   
 $R^2 = 0.9999$ ; Dilución=20

**Tabla 30**

*Curva de calibración para determinar la temperatura y concentración de hidrolisis enzimática*

Nº Punto	X Concentración (mg/mL)	Y Absorbancia
1	0.05	0.079
2	0.10	0.128
3	0.25	0.275
4	0.4	0.422
5	0.6	0.617

Ecuación:  $Y = X \cdot 0.9786 + 0.0301$   
 $R^2 = 0.9999$ ; Dilución=20

**Tabla 31**

*Curva de calibración para determinar la temperatura de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y concentración de proteasa de la hidrólisis mixta*

N° Punto	X Concentración (mg/mL)	Y Absorbancia
1	0.05	0.100
2	0.10	0.150
3	0.25	0.297
4	0.4	0.444
5	0.6	0.641

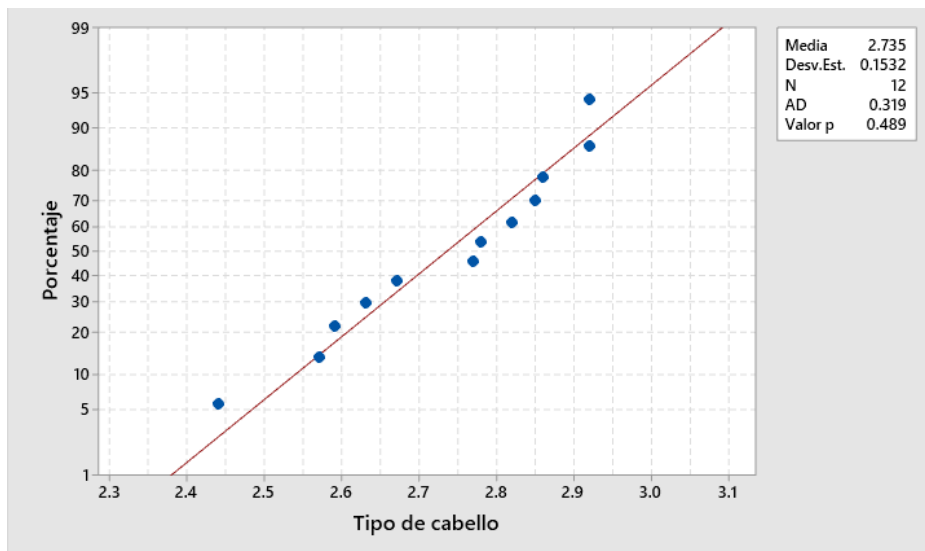
Ecuación:  $Y = X \cdot 0.9826 + 0.0514$   
 $R^2 = 0.9999$ ; Dilución=20

## Anexo 4 – Curvas de normalidad

A continuación, se muestran las pruebas de normalidad con Anderson-Darling ( $p > 0.05$  para que tenga distribución normal, por ende, sean paramétricos).

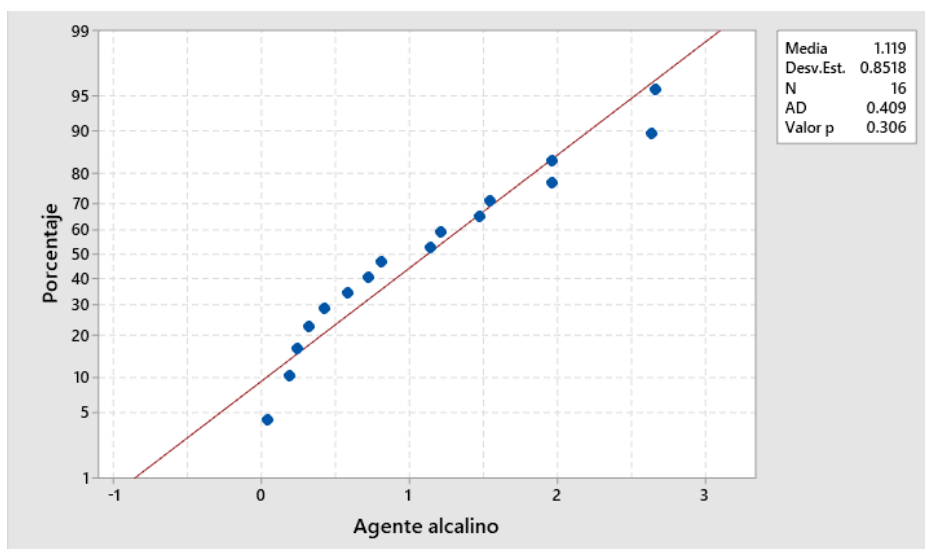
**Figura 40**

*Probabilidad normal de datos en la prueba de selección de tipo de cabello.*



**Figura 41**

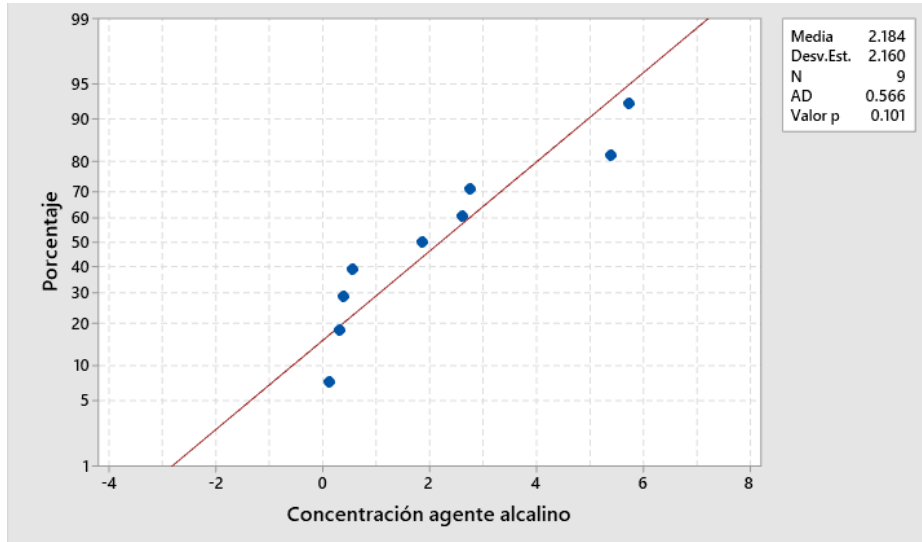
*Probabilidad normal de datos en la prueba de selección de agente alcalino.*





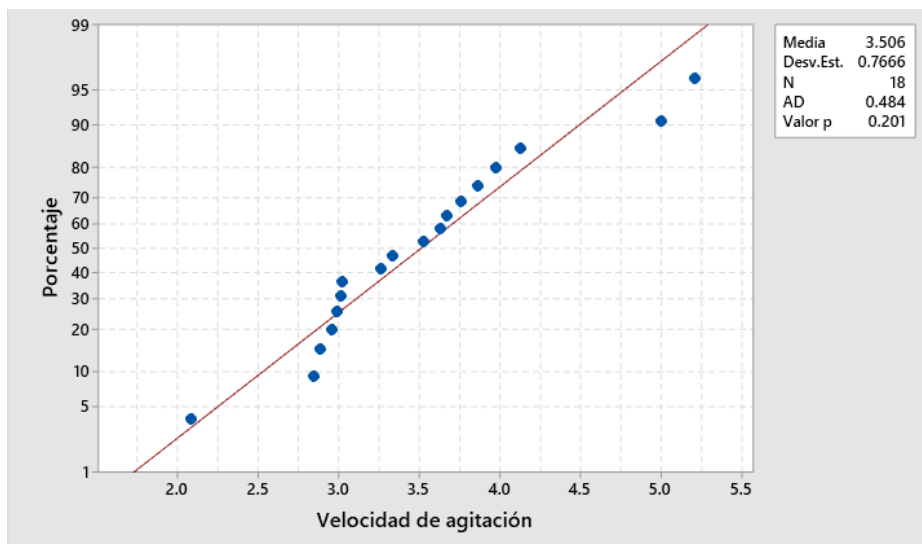
**Figura 42**

*Probabilidad normal de datos en la prueba de determinación de concentración de agente alcalino*



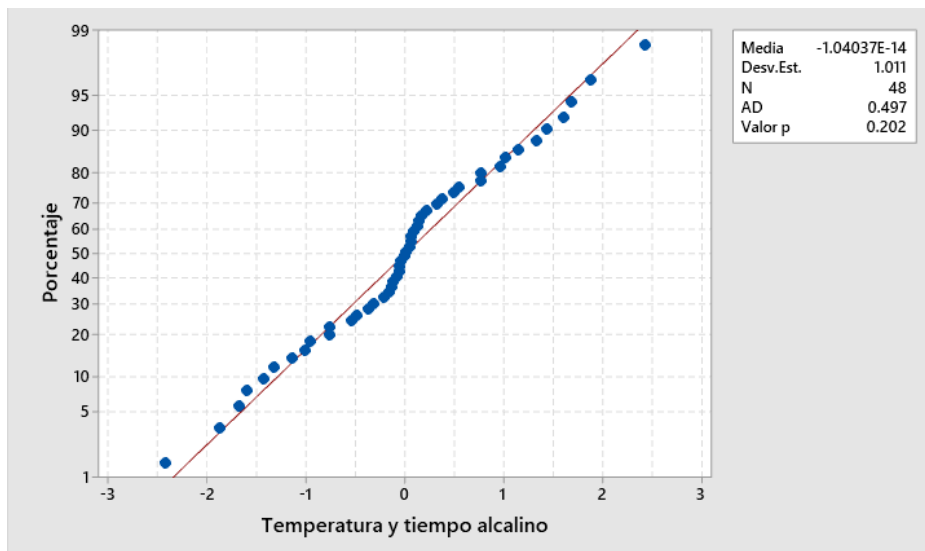
**Figura 43**

*Probabilidad normal de datos en la prueba de determinación de velocidad de agitación.*



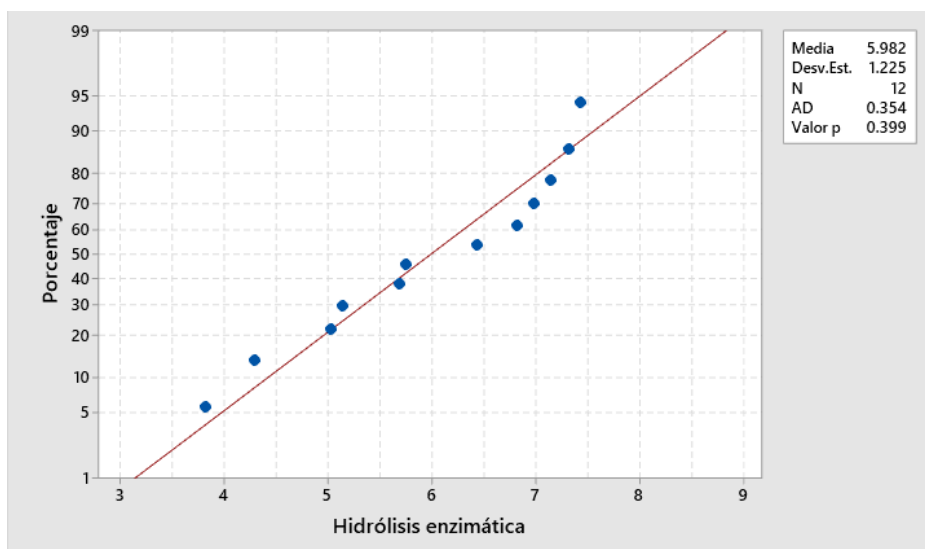
**Figura 44**

*Probabilidad normal de datos en la prueba de determinación de temperatura y tiempo de hidrolisis alcalina*



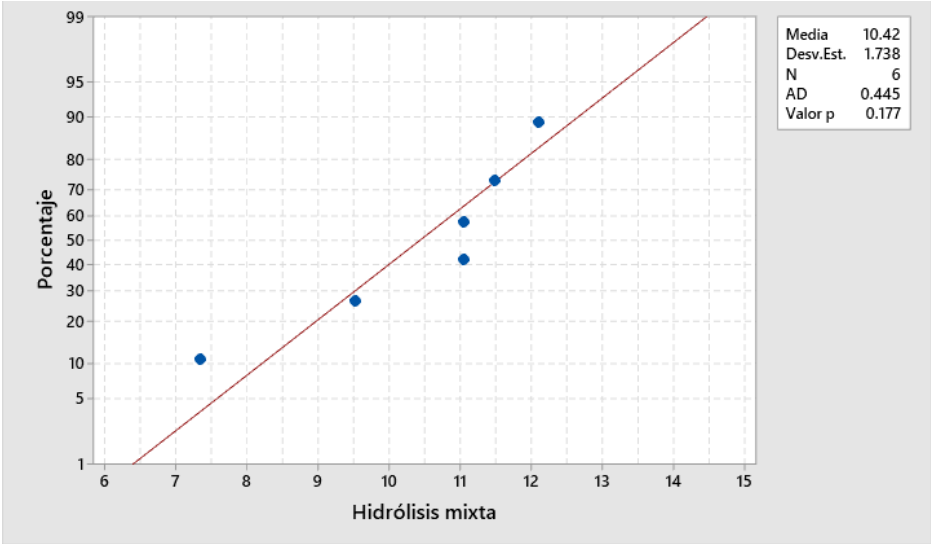
**Figura 45**

*Probabilidad normal de datos en la prueba de obtención de parámetros óptimos de hidrolisis mixta (primera etapa)*



**Figura 46**

*Probabilidad normal de datos en la prueba de obtención de parámetros óptimos de hidrólisis mixta (segunda etapa)*



## Anexo 5 – Especificaciones y caracterización del hidrolizado de queratina

Una vez obtenido el hidrolizado de queratina se procedió a caracterizarlo, a continuación, se muestran sus características fisicoquímicas.

**Tabla 32**

*Características y especificaciones del hidrolizado de queratina*

<b>Características y especificaciones</b>	
Apariencia	Líquido ligeramente viscoso
Concentración de proteína total	12.11 mg/mL
Color	Amarillo
Olor	Ligeramente desagradable (azufrado)
Densidad	0.98 – 1.09 g/mL
pH	6.8 – 7.2
Análisis microbiológico	0 UFC