

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



**“EXTRACCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR DE PIELES Y
ESPINAZOS DEL PESCADO BONITO (*Sarda chiliensis
chiliensis*) PROVENIENTE DEL TERMINAL PESQUERO DE
VENTANILLA – CALLAO MEDIANTE LA HIDRÓLISIS ÁCIDA A
NIVEL LABORATORIO”**

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

AUTOR

DE LA CRUZ ASTO SONIA GRISET
GUADALUPE QUISPE ANA CECILIA
MAYHUA TORRES ENALUZ ROSARIO

ASESOR

ING° JORGE AMADOR, LOPEZ HERRERA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: INGENIERIA Y TECNOLOGÍA

CALLAO – 2024

PERÚ

3. TESIS - GUADALUPE QUISPE - DE LA CRUZ ASTO - MAYHUA TORRES



Nombre del documento: 3. TESIS - GUADALUPE QUISPE - DE LA CRUZ ASTO - MAYHUA TORRES.pdf
 ID del documento: 8a9800254b5a221628c98c524737260dc3819249
 Tamaño del documento original: 3,64 MB
 Autores: []

Depositante: FIQ PREGRADO UNIDAD DE INVESTIGACION
 Fecha de depósito: 24/12/2024
 Tipo de carga: interface
 fecha de fin de análisis: 24/12/2024

Número de palabras: 14.198
 Número de caracteres: 101.450

Ubicación de las similitudes en el documento:



Fuentes de similitudes

Fuentes principales detectadas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	scielo.sld.cu REVISIÓN DE LOS MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR ... http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=62223-4861202300040102#-text=El colágen... 7 Fuentes similares	1%		Palabras idénticas: 1% (207 palabras)
2	repositorio.unjfsc.edu.pe Obtención de colágeno a partir de los residuos de pesca... https://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14067/4614 10 Fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (150 palabras)
3	www.scielo.cl Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Sub... https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=60718-07642017001100011 37 Fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (126 palabras)
4	repositorio.unjfsc.edu.pe http://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14067/4614/CARLOS ALBERTO SANTOS... 7 Fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (109 palabras)
5	dx.doi.org http://dx.doi.org/10.23857/rev.v10i3.3958 5 Fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (91 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	repository.uamerica.edu.co https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/handle/20.500.11839/9187/1/6152640-2020-3-10.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (48 palabras)
2	erp.untumbes.edu.pe Colágeno obtenido de escamas de cachaema (Cynoscion anal... https://erp.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14067/7345/tesis_camacurry_yathay_c_w...	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (37 palabras)
3	repositorio.unjfsc.edu.pe https://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14067/7345/tesis_camacurry_yathay_c_w...	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (36 palabras)
4	www.redalyc.org https://www.redalyc.org/journal/67296/7297/1079013/67297/1079013.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (36 palabras)
5	repositorio.unjfsc.edu.pe https://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14067/5137/1/JOSÉ JEFERSON, ANTON CASTR...	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (37 palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitudes detectadas) Estas fuentes han sido citadas en el documento sin encontrar similitudes.

- <https://peru.oceana.org/blog/terminales-pesqueros-como-se-distribuyen-los>
- <https://ogelee.produce.gob.pe/index.php/en/k2/precibonito>
- <https://business2.veritradecorp.com/es/mis-busquedas>
- <https://www.retema.es/actualidad/industria-pesquera-ue-produce-52>
- <https://gestion.pe/economia/empresas/mercado-de-suplementos-nutricionales>

INFORMACIÓN BÁSICA

FACULTAD : INGENIERÍA QUÍMICA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN : INGENIERÍA QUÍMICA

TÍTULO :

“EXTRACCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR DE PIELES Y ESPINAZOS DEL PESCADO BONITO (*Sarda chiliensis chiliensis*) PROVENIENTE DEL TERMINAL PESQUERO DE VENTANILLA – CALLAO MEDIANTE LA HIDRÓLISIS ÁCIDA A NIVEL LABORATORIO”

AUTORES / CÓDIGO ORCID / DNI:

SONIA GRISET, DE LA CRUZ ASTO / 0009-0002-0106-1369 / 75432451
ANA CECILIA, GUADALUPE QUISPE / 0009-0006-7486-5279 / 70451037
ENALUZ ROSARIO, MAYHUA TORRES / 0009-0001-8707-8948 / 76391671

ASESOR / CÓDIGO ORCID / DNI:

JORGE AMADOR, LOPEZ HERRERA / 0000-0001-5506-8406 / 07446161

LUGAR DE EJECUCIÓN:

LABORATORIO DE FISCOQUÍMICA DE LAS INSTALACIONES DE LA PLANTA DE HEINEKEN, HUACHIPA – PERÚ

UNIDAD DE ANÁLISIS:

PIELES Y ESPINAZOS DEL PESCADO BONITO (*Sarda chiliensis chiliensis*)

TIPO / ENFOQUE / DISEÑO DE INVESTIGACION:

APLICADA / CUANTITATIVO / EXPERIMENTAL

TEMA OCDE: 2.04.01 INGENIERÍA QUÍMICA

PRÓLOGO DEL JURADO

La presente Tesis fue sustentada por las Bachilleres **DE LA CRUZ ASTO SONIA GRISET, GUADALUPE QUISPE ANA CECILIA** y **MAYHUA TORRES ENALUZ ROSARIO** ante el Jurado de Sustentación de Tesis conformado por los siguientes docentes ordinarios de la Universidad Nacional del Callao:

ING° RODRIGUEZ VILCHEZ RICARDO	Presidente
Lic. REYNA SEGURA ANA MARIA	Secretaria
ING° PANTOJA CADILLO AGERICO	Vocal
ING° HERRERA SANCHEZ SONIA ELIZABETH	MIEMBRO SUPLENTE
ING° AVALOS JACOBO VICTOR HUGO	Asesor

Tal como está asentado en el Libro de actas N° 01 Folio N° 148 y Acta N° 147 de fecha diciembre 28 de 2024, para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico en la Modalidad de Tesis con Ciclo de Tesis, de conformidad a lo dispuesto en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Callao, aprobado por Resolución de Consejo Universitario N° 150-2023-CU del 15 de junio de 2023

DEDICATORIA

A Dios, por brindarnos la fuerza para seguir adelante, a pesar de las dificultades encontradas en el camino.

A nuestras familias, en especial a nuestros padres, que con esfuerzo y dedicación nos brindaron su apoyo para que el día de hoy seamos las profesionales que somos, gracias por su amor incondicional, este logro es también de ustedes.

A nosotras mismas, por la perseverancia y el compromiso que mantuvimos a lo largo de este desafiante recorrido.

ÍNDICE

INDICE DE TABLAS.....	3
ÍNDICE DE FIGURAS.....	4
RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
INTRODUCCIÓN	7
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
1.1. Descripción de la realidad problemática	8
1.2. Formulación del problema.....	9
1.2.1. <i>Problema general</i>	9
1.3. Objetivos.....	10
1.4. Justificación	10
1.5. Delimitantes de la investigación	11
II. MARCO TEÓRICO	12
2.1. Antecedentes.....	12
2.1.1. <i>Antecedentes Internacionales</i>	12
2.1.2. <i>Antecedentes nacionales</i>	14
2.2. Bases teóricas.....	17
2.2.1. <i>Proteínas</i>	17
2.2.2. <i>Cinética de hidrólisis</i>	18
2.2.3. <i>Métodos de extracción de colágeno</i>	20
2.2.4. <i>Terminal Pesquero de Ventanilla - Perú</i>	21
2.3. Marco conceptual	21
2.3.1. <i>Colágeno</i>	21
2.3.2. <i>Pescado Bonito (Sarda chiliensis chiliensis)</i>	26
2.3.3. <i>Generación de residuos del pescado bonito (Sarda chiliensis chiliensis)</i>	28
2.4. Definiciones de términos básicos	29
III. HIPOTESIS Y VARIABLES.....	32

3.1. Hipótesis	32
3.1.1. Operacionalización de las variables	33
IV. METODOLOGÍA DEL PROYECTO	34
4.1. Diseño metodológico	34
4.2. Método de la investigación	38
4.3. Población y muestra	39
4.4. Lugar de estudio	39
4.5. Técnicas e instrumentos para la recolección de la información	39
V. RESULTADOS.....	43
5.1. Resultados descriptivos	43
5.2. Resultados inferenciales	45
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	50
6.1. Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados.....	50
6.2. Contrastación de los resultados con otros estudios similares.....	50
6.3. Responsabilidad ética de acuerdo a los reglamentos vigentes.	51
VII. CONCLUSIONES	52
VIII. RECOMENDACIONES.....	53
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	54
ANEXOS	59

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación de tipos de colágeno	23
Tabla 2	Clasificación taxonómica	27
Tabla 3	Composición física del residuo de bonito	29
Tabla 4	Composición química del residuo del pescado bonito (Sarda	
	chiliensis chiliensis)	29
Tabla 5	Datos experimentales obtenidos	44
Tabla 6	Pruebas de normalidad	46
Tabla 7	Tabla de correlación para datos no paramétricos.	48
Tabla 8	Valores del coeficiente de correlación	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Desnaturalización de una proteína.....	18
Figura 2	Exteriores del Terminal Pesquero de Ventanilla - Callao.....	21
Figura 3	Estructura la triple hélice del colágeno	22
Figura 4	Sarda chiliensis chiliensis.....	27
Figura 5	Etapas de la investigación.....	34
Figura 6	Diagrama de flujo para la extracción de colágeno.....	36
Figura 7	Gráfico Q-Q normal de Rendimiento	46
Figura 8	Gráfico Q-Q normal sin tendencia de Rendimiento	47
Figura 9	Diagrama de cajas	47
Figura 10	Gráfico de barras	48

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo la extracción del colágeno mediante hidrólisis ácida a partir de pieles y espinazos del pescado Bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*), utilizando 2 variables de operación: concentración de ácido acético y tiempo de extracción.

Se propuso realizar una metodología que consistió en la recepción, segregación y limpieza a la materia prima, realizando un pretratamiento con hidróxido de sodio (NaOH) al 0,1N con el fin de remover las proteínas no colagénicas para optimizar la mayor extracción de colágeno, seguido de una hidrólisis ácida con ácido acético (CH₃COOH) de una relación de 1:1 (peso/peso) en pieles y espinazos, siendo las condiciones de operación a 2 concentraciones de 0,4 M y 0,6M con tiempos de extracción de 24 h, 36 h, 48 h, 60 h y 72 h. Los resultados mostraron como mejores porcentajes de extracción 10,2% a 0,4 M y 60 h; y 13,03% a 0,6M y 48 h

Se concluyo que es posible extraer colágeno a partir de las pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) y que presentaron buenos porcentajes de extracción en comparación con los antecedentes de otras investigaciones, teniendo como parámetros óptimos las pruebas entre la 22 y 24 que indican un rendimiento máximo del 13,03%

Palabras claves: colágeno, hidrólisis ácida, ácido acético, extracción.

ABSTRACT

The objective of this research was the extraction of collagen through acid hydrolysis from the skins and bones of Bonito fish (*Sarda chiliensis chiliensis*), using 2 operating variables: acetic acid concentration and extraction time.

It was proposed to carry out a methodology that consisted of receiving, segregating and cleaning the raw material, carrying out a pretreatment with sodium hydroxide (NaOH) at 0,1N in order to remove non-collagenic proteins to optimize the greatest extraction of collagen, followed of an acid hydrolysis with acetic acid (CH₃COOH) of a ratio of 1:1 (weight/weight) in skins and backbones, the operating conditions being at 2 concentrations of 0,4 M and 0,6 M with extraction times of 24 h, 36 h, 48 h, 60 h and 72 h. The results show the best extraction percentages of 10,2% at 0,4 M and 60 h; and 13,03% at 0.6M and 48 h

It was concluded that it is possible to extract collagen from the skins and bones of bonito fish (*Sarda chiliensis chiliensis*) and that they presented good extraction percentages in comparison with the background of other investigations, having as optimal parameters the tests between 22 and 24 that indicate a maximum yield of 13,03%

Keywords: collagen, acid hydrolysis, acetic acid, extraction

INTRODUCCIÓN

La desnutrición crónica afecta a un alto porcentaje de la población mundial, según [1] alrededor de 800 millones de personas y sigue en aumento. El Perú no es exento de esta problemática y se agudiza en las poblaciones vulnerables; por lo que implica aprovechar recursos existentes; siendo la actividad pesquera una gran fuente de generación de residuos que por su procedencia contienen gran valor nutricional; tradicionalmente se aprovecha los residuos pesqueros para la producción de harinas y aceites de pescado, por ello es necesario ir en búsqueda de nuevas tecnologías para un mayor aprovechamiento [2]

En el terminal pesquero de Ventanilla, uno de los principales terminales de Lima, se realiza la comercialización de grandes volúmenes de pescados, siendo de mayor preferencia el pescado bonito generando residuos como cola, espinazos, cabeza, escamas, pieles y vísceras, que representan aproximadamente 2042,625 TN [3]

Se cuenta con numerosas investigaciones sobre el aprovechamiento de los residuos de pescados, donde se indica que presentan una considerable cantidad de colágeno. El colágeno hidrolizado es altamente proteico, es un insumo en la elaboración de productos de la industria cosmética, alimentos y farmacéutica.

El presente trabajo de tipo experimental se basa en una metodología para la extracción del colágeno hidrolizado proveniente de los restos de pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) por medio de una tecnología idónea; logrando así colaborar con el medio ambiente reduciendo los niveles de contaminación y a su vez contribuir con el aprovechamiento nutricional de la población a través del desarrollo tecnológico para su industrialización en nuestro país.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

La producción pesquera a nivel mundial ha crecido gradualmente en los últimos 60 años, en el 2020, se destinó el 89% (78,8 millones de toneladas) de la producción al consumo humano directo, mientras que lo restante en su gran mayoría fue destinada a la producción de harina y aceite de pescado. El consumo per cápita de pescado también aumentó de 9,9 Kg a 20,2 Kg de 1960 a 2020, además se estima que en el año 2030 por las tendencias alimentarias se produzca un incremento del 15% del consumo de alimentos acuícolas [4]

Así como ha ido aumentando la cantidad per cápita, junto con ello se ha ido generando una gran cantidad de residuos, según [5] los residuos sólidos generados en la industria pesquera representan el 70% en promedio del volumen total de entrada.

De acuerdo con [6], en el Perú el abastecimiento de productos pesqueros frescos a nivel mayorista se da principalmente en 2 terminales: Villa María del Triunfo y Ventanilla, ubicados al sur y norte de Lima, respectivamente.

Del total de volúmenes frescos comercializados, en Villa María del Triunfo se registró un ingreso de 70 000 TM entre pescados y mariscos, mientras que en el terminal pesquero de Ventanilla fue de 80 000 TM convirtiéndolo en uno de los principales terminales con mayor abastecimiento de recursos marinos en la costa peruana. [7]

Según [8] en el terminal pesquero de Ventanilla, llegan a diario entre 200 y 300 toneladas de productos hidrobiológicos provenientes de las 3 regiones del país, donde destacan por el volumen de comercialización las especies: jurel, caballa y bonito siendo este último el que alcanza las 10 TM mensuales entre el 2019 al 2021 convirtiéndolo en la especie con mayor demanda por la población generando así más cantidad de residuos (pieles, espinazos y escamas) que si no se tratan adecuadamente, terminarán formando parte de la contaminación ambiental en el distrito de Ventanilla.

Las fuentes de obtención de colágeno provienen principalmente de los huesos y pieles de animales bovinos y porcinos. Sin embargo, este tipo de colágeno es altamente inmunogénico e inflamatorio provocando daños en la salud de las personas, por eso las fuentes marinas son vistas como una forma de obtención más segura para su consumo humano. [9]

Conforme a [10] aproximadamente el 30% de la población mundial se ve afectado por la deficiencia de colágeno causándoles enfermedades como la artritis, la osteoporosis, la disminución de la densidad ósea y la debilidad muscular, así como también ocasionando un impacto negativo en la piel como acné y arrugas. Por estos motivos, ha llevado a que muchas personas busquen suplementos de colágeno convirtiéndolo como parte de su dieta alimenticia. para mantener una buena salud.

De acuerdo con [11] el colágeno en Perú proviene de importaciones del exterior y señala que las proteínas hidrolizadas crecieron aproximadamente del 2018 al 2019 en un 27,23% demostrándose así un crecimiento del consumo del colágeno en el mercado peruano.

Por ello y por todos los motivos expuestos anteriormente, el presente proyecto de tesis busca maximizar la reutilización de los residuos sólidos acuícolas generados en el terminal pesquero de Ventanilla como materia prima para la extracción del colágeno mediante la hidrólisis ácida y crear así un producto nacional como opción de minimizar la demanda que se da en nuestro país.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Será posible extraer colágeno a partir de la hidrólisis ácida de pieles y espinazos que se generan por la comercialización del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio?

1.2.2. Problemas específicos

- 1) ¿Cuáles son las características fisicoquímicas de pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) como materia prima para extraer colágeno mediante la hidrólisis ácida a nivel laboratorio?
- 2) ¿Cuáles son los parámetros de la hidrólisis ácida para extraer mayor porcentaje de colágeno a partir de pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) a nivel laboratorio?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Extraer colágeno a partir de la hidrólisis ácida de pieles y espinazos que se generan por la comercialización del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio.

1.3.2. Objetivos específicos

Determinar las características fisicoquímicas de pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) como materia prima para extraer colágeno mediante la hidrólisis ácida a nivel laboratorio.

Determinar los parámetros de la hidrólisis ácida para extraer mayor porcentaje de colágeno a partir de pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) a nivel laboratorio.

1.4. Justificación

La generación de subproductos mayormente no aprovechados en la industria pesquera constituye alrededor de más de 20 millones de toneladas de residuos a nivel mundial [12]. Según [6] en el Perú, el terminal pesquero de Ventanilla, uno de los grandes distribuidores de pescado a nivel nacional se descartan restos del fileteado como escamas, piel, aletas, cabezas y espinazos, diariamente o destinados a productos de bajo valor, siendo la mayor cantidad de residuos generados por el pescado bonito.

Estos residuos serán utilizados como materia prima para la extracción de productos de alto valor proteico, como es el colágeno hidrolizado a partir de pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) liberando el problema causado por los vectores de contaminación a partir de la generación de residuos de pescado.

Es importante resaltar que el uso de suplementos alimenticios en Perú ha ido creciendo en los últimos años debido al aumento de la conciencia sobre la importancia del colágeno para la salud y la belleza [13]. Además, de acuerdo con [11], el colágeno en Perú proviene de importaciones evidenciándose aproximadamente un incremento del 27,23% durante los años 2018 y 2019

Por lo expuesto anteriormente, se realizó esta investigación de extraer colágeno a partir de los residuos marinos para atender esta demanda creciente y crear un producto nacional con alto valor agregado.

1.5. Delimitantes de la investigación

- a) Teórica.-** De acuerdo con [14] para la presente tesis se contó con información respecto a la obtención de colágeno a partir de la hidrólisis ácida.
- b) Temporal.-** La investigación se realizó en un periodo de 5 meses. Iniciándose el 2 de agosto del 2024 y finalizando el 12 de diciembre del 2024
- c) Espacial.-** La investigación se realizó en el terminal pesquero de Ventanilla para la recolección de materia prima y en el laboratorio de fisicoquímica de las instalaciones de la planta de Heineken, Huachipa – Perú para la experimentación y recolección de datos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes Internacionales

En el artículo de investigación titulada “*Obtención y caracterización de colágeno del pez de agua dulce Prochilodus magdalenae: aplicación en películas biodegradable*” de [15] tuvieron como objetivo obtener y caracterizar el colágeno de diferentes partes residuales (piel, cabeza, escamas y aletas) del pez de agua dulce *Prochilodus magdalenae* (Pm) y demostrar el área de mayor extracción. La metodología inició con el pretratamiento de todos los residuos con NaOH al 0,1 N. Luego, las muestras fueron sumergidas durante 3 días en una solución de butanol (10%, proporción 1:10), cada 12 horas cambiaron la solución para eliminar la grasa y luego lavaron a fondo con agua destilada fría hasta alcanzar un pH neutro. Después, la extracción del colágeno fue en un medio ácido (CH_3COOH) 0,5 M durante 24 h en agitación. Filtraron al vacío y el residuo fue sometido a una segunda extracción en las mismas condiciones. Después de este paso, agregaron NaCl (2 M) a ambos sobrenadantes hasta precipitar el colágeno. El colágeno fue recuperado por centrifugación (10 000 rpm, durante 40 min a 4°C). Los autores determinaron el rendimiento de la extracción mediante comparación del peso del producto final seco y la materia prima inicial seca. En las aletas, cabeza, piel y escamas, obtuvieron 40,3%; 9,3%; 55,6% y 16,1% de colágeno, respectivamente, y demostraron que la región que obtuvo más colágeno fueron las aletas y la piel.

En el siguiente artículo titulado “*Characterization of carp (Cyprinus carpio) skin gelatin extracted using different pretreatments method*” tuvieron como objetivo el estudio de la influencia del pretratamiento en las características y propiedades del gel de la gelatina de la piel de carpa usando NaCl, NaOH/ etanol y NaOH/ H_2SO_4 / $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$. Para la obtención de la primera gelatina (I), la piel fue sumergida en 2,6% de NaCl por 40 min a 16°C, para la segunda gelatina (II) tuvo un tratamiento de 0,1N de NaOH por 6 h y luego 12 h en etanol a 4°C. Por último, para la obtención de la tercera gelatina (III) los autores trabajaron con 0,2%

NaOH, 0,2% de H₂SO₄ y 1% de C₆H₈O₇, cada uno durante 2 h y 16°C. La electroforesis mostró que los productos (I) y (III) contenía cadenas de hidroxiprolina mientras que en la gelatina (II) no observaron estas bandas distintivas correspondientes a los componentes principales del colágeno. Los análisis demostraron que el mejor tratamiento fue el (III) donde obtuvieron un 82,44% de proteínas totales y 82,36% de rendimiento para obtener colágeno, superior a los otros dos. [16]

En la investigación titulada *“Optimization of the Extraction of Acid-Soluble Collagen from Byproducts Red Tilapia (Oreochromis spp) using Response Surface Design”* tuvieron como objetivo evaluar el efecto de temperatura y concentración del hidrolizante en la extracción de colágeno soluble en ácido en tres regiones de la tilapia roja en las escamas, espinas y pieles, donde aplicaron dos diseños experimentales. El primero fue la etapa de hidrólisis básica (NaOH) para la liberación de proteínas del tejido conectivo (PTC) y segundo, fue la hidrólisis ácida (CH₃-COOH) para la obtención del colágeno. Sus resultados demostraron que a 25°C y 0,4 M de NaOH en la hidrólisis básica fueron los parámetros óptimos para obtener la mayor liberación de PTC en las regiones estudiadas. Además, los autores alcanzaron el máximo porcentaje de colágeno en la hidrólisis ácida con una solución 0,7M de CH₃COOH y temperaturas de 18,5°C, 11°C y 21,5°C para piel (0,88%), escamas (2,16%) y espinas (0,51%), respectivamente. [17]

En la tesis de grado para Master of Science: *“Extraction of Collagen from fish wastes, optimization and characterization”* [18] tuvo como propósito determinar las condiciones óptimas de extracción del colágeno a partir de los residuos de pescado. Con la ayuda de la metodología de superficie de respuesta (RSM), el autor trabajó con 4 factores siendo la concentración de ácido acético, pH, temperatura y tiempo de extracción. Primero, estas muestras pasaron por un tratamiento alcalino, utilizando NaOH 0,1 M para erradicar los productos no colagénicos, proteínas, grasa de la piel y materias insolubles. A continuación, enjuagó a fondo con agua destilada hasta neutralizar el pH, seguido de un tratamiento con alcohol en la piel para disolver sustancias odoríferas. Finalmente, para extraer el colágeno usó un medio ácido (CH₃COOH) al 0,5 M

seguido de la salinización. Como resultado de la investigación, el autor obtuvo los valores óptimos de 3,19 de pH, 0,67 M de ácido con 77,51 h para escamas, 74h para piel, huesos 73,16 y aletas 72,36 h con eficiencias de 24%, 41% y 49% de colágeno respectivamente.

En la tesis de grado para obtener el título de bioquímica. *“Utilización de medio ácido para la extracción de colágeno de la piel del Dorado (Coryphaena Hippurus)”* de [19] tuvieron como fin obtener el colágeno usando un medio ácido en la piel del pescado Dorado. En la metodología los autores utilizaron dos factores que fueron la temperatura de inmersión y concentración del ácido. Primero, sumergieron las muestras en cloruro de sodio 1 M durante 30min y luego introdujeron en ácido láctico a 3 concentraciones de 1%; 1,5% y 2% a 18°C, 20°C y 23°C, cada uno durante 48 horas, para posteriormente filtrar de 15 a 20 veces hasta obtener una textura de gelatina blanca. Como resultado, los autores obtuvieron un colágeno libre de microorganismos (coliformes, hongos) al 4,2%; 5,4% y 8,4%, siendo este último la eficiencia máxima a una temperatura de 18°C y una concentración de 2% de ácido láctico.

2.1.2. Antecedentes nacionales

En el proyecto de tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Pesquero titulado *“Obtención de colágeno a partir de la cabeza de paiche (Arapaima gigas)”* de [20] tuvo como objetivo obtener colágeno a partir de los residuos de tejido blando de la cabeza del paiche, así mismo también reconocer sus parámetros fisicoquímicos tanto de la materia prima, como del colágeno obtenido y el rendimiento óptimo para el proceso. La metodología empleada por el autor inició con el acondicionamiento de la materia prima, pasando por una maceración con hidróxido de potasio (KOH), neutralización con ácido cítrico (C₆H₈O₇), y finalmente una etapa de extracción, considerando concentración, tiempo y temperatura para un resultado óptimo. El colágeno extraído tuvo un rendimiento de 14,63%. La composición química proximal del colágeno obtenido fue 89,67% de proteína, 1,46% de cenizas totales, 7,03% de humedad, y 0,76% de grasa. Asimismo, obtuvo 11,3 g de hidroxiprolina /100 g de colágeno. Con los resultados

obtenidos, el autor logró desarrollar un método de extracción de colágeno a partir de la cabeza del paiche.

En la tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Químico titulado *“Obtención del colágeno a partir de los residuos del bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) mediante hidrólisis alcalina”* de [21], tuvo como objetivo la obtención del colágeno a partir de la piel, escamas, huesos y aletas del pescado bonito, así mismo también reconocer sus parámetros fisicoquímicos tanto de la materia prima como del colágeno obtenido y el rendimiento óptimo para el proceso. La metodología empleada por los autores inició con el acondicionamiento de la materia prima, secado, hidrólisis alcalina con hidróxido de potasio (KOH), extracción con CH₃COOH a 0,3M, separación, y finalizando con un análisis fisicoquímico del colágeno obtenido. Presentó como resultado un óptimo rendimiento de colágeno de 14,78%, a una concentración de 0,6 molar de KOH, en un tiempo de hidrólisis alcalina de 9 h y un tiempo de extracción en el medio ácido de 90 minutos. Respecto al análisis fisicoquímico del colágeno obtenido este indicó una óptima y adecuada cantidad de proteínas de 73,53%, mientras que el porcentaje de grasas, agua y cenizas fue de 8,18%; 11,71%; 11,89% respectivamente.

En la tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Químico titulado *“Obtención de colágeno a partir de los residuos de pescado provenientes del mercado de abastos del distrito de huacho”* de [22] tuvo como objetivo obtener colágeno a partir de los residuos de pescado provenientes del mercado de abasto, así mismo también reconocer sus parámetros fisicoquímicos tanto de la materia prima como del colágeno obtenido y el rendimiento óptimo para el proceso. La metodología empleada por el autor comenzó con el acondicionamiento de la materia prima, seguido por un secado, hidrólisis alcalina con hidróxido de sodio (NaOH), neutralización, extracción, separación, y finalizando con un análisis fisicoquímico del colágeno obtenido. Presentó como resultado un rendimiento del 11,28% a una concentración de 0,4 molar de disolución de hidróxido de sodio, en un tiempo exacto de 10 horas a una T° ambiente, seguidamente del tiempo de extracción que fueron de 120 minutos

con una temperatura entre el rango de 75°C – 85°C, lo cual fue lo óptimo para su investigación.

En la tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Pesquero titulado *“Obtención de gelatina de piel de perico (Coryphaena hippurus) y caracterización de sus propiedades fisicoquímicas”* de [23] tuvo como objetivo obtener gelatina a partir de piel de perico pasando por un pretratamiento con hidróxido de sodio (NaOH). La metodología empleada por el autor consistió en un acondicionamiento de la materia prima empleando hidróxido de sodio (NaOH), seguido por una hidrólisis con ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) y finalmente se purificó filtrando y secando, de esta manera obtuvo la gelatina en polvo; además las condiciones de extracción estuvieron en función de la temperatura, tiempo y concentración del ácido débil. El autor tuvo como resultado óptimo una gelatina con fuerza de gel 386,6 g, un rendimiento de extracción de proteína de 20,4%, una viscosidad de 11 cP y un porcentaje de proteína 88,3%

En la tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Químico titulado *“Reciclaje de los residuos industriales del jurel por medio de la técnica de hidrólisis”* de [24] tuvo como objetivo obtener un producto hidrolizante líquido a partir de residuos industriales de jurel para ser utilizado como suplemento consumido por los animales. La metodología empleada consistió en un acondicionamiento de la materia prima, una hidrólisis química con ácido fórmico, en donde varió la concentración de ácido, temperatura y tiempo de hidrólisis para la obtención del producto final, finalizando así con un tamizado. Se tuvo como mejor tratamiento utilizando el 3% de ácido fórmico con respecto al peso de residuos, a 30°C al cuarto día de hidrolizado. El producto final presentó una composición química de humedad 79%, proteína total 15,05%, cenizas 1,42% y carbohidratos 0,12%, además una producción de nitrógeno soluble de 7 635 mg/100 g de muestra analizada, así como también, las características físico – organolépticas fueron consideradas aceptables, lo cual permitió calificarlo como un producto de buena calidad para poder ser usado como suplemento o insumo en la formulación de raciones para animales.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Proteínas*

Son biomoléculas que están constituidos por α - aminoácidos enlazados entre sí por enlaces peptídicos. Una sola molécula de proteína está constituida por 20 aminoácidos y las combinaciones de estos [25]. Presentan un alto peso molecular, formado por 50%–55% de carbono, 6%–7% de hidrógeno, 20%–23% de oxígeno, 12%–19% de nitrógeno y 0,2%–3% de azufre, entre otros elementos. [26]

a) Clasificación de las proteínas.- Según su composición química: Se clasifican en simples y conjugadas [27]. Las proteínas simples son:

- 1) Proteínas fibrosas, insolubles en agua, como el colágeno, la queratina y elastina.
- 2) Proteínas globulares, forman coloides en el agua, como la albúmina, globulina, etc.

Según su función biológica: Se clasifican en enzimas, proteínas estructurales y contráctiles, hormonas proteicas, proteínas de transporte e inmunoglobulinas.

b) Desnaturalización de la proteína.- La desnaturalización es un proceso que permite romper las estructuras de las proteínas. Las proteínas se absorben mejor cuando se han convertido en aminoácidos. Cuando las proteínas se desnaturalizan, su absorción se realiza de manera eficaz, con temperaturas de desnaturalización que varían entre 26°C y 29°C. [28]

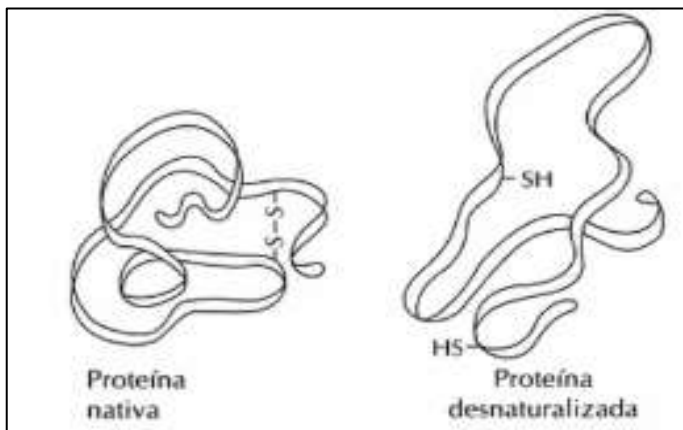
La desnaturalización de una proteína implica la alteración no natural de su estado iónico, los factores que pueden ocasionar este efecto son amplios pero los más comunes son el calor y las variaciones en el pH. [29]

Según [30] al desnaturalizarse la proteína se desmorona la estructura de la triple hélice del colágeno, los enlaces de puentes de hidrógeno se rompen, sin alterar su estructura primaria, como se observa en la **Figura 1 (Ver pag.**

Nº 18). Al calentar el colágeno, este se hidroliza y forma gelatina de menor masa molecular [31], lo que resulta en colágeno parcialmente hidrolizado.

Dado que un calentamiento suave solamente puede provocar la ruptura de los enlaces de hidrógeno que estabilizan la triple hélice del colágeno, el proceso de transformación de colágeno en gelatina puede ser considerado como un proceso típico de desnaturalización. [30]

Figura 1
Desnaturalización de una proteína



Acuña, 2006

La desnaturalización es causada por diversos cambios térmicos y químicos, como las variaciones de pH, el uso de detergentes, cambios en la fuerza iónica por adición de sales, presencia de solventes orgánicos, o la agitación son fuentes de desnaturalización.

2.2.2. Cinética de hidrólisis

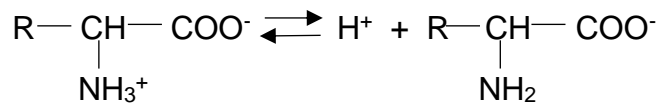
a) Carga eléctrica de las proteínas.- Las proteínas presentan la capacidad de cargarse de manera positiva o negativa dependiendo del pH del medio, comportándose como ácidos o bases; según la composición aminoacídica de su secuencia peptídica. [31]

El pH es llamado pI (punto isoeléctrico) cuando la proteína posea una carga neta nula, y en ese estado su solubilidad disminuye, lo que genera un precipitado. Por otro lado, si el $\text{pH} > \text{pI}$ las proteínas adquieren carga

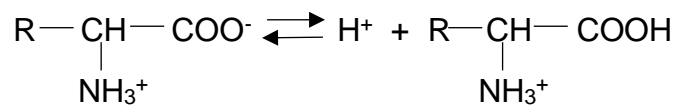
negativa, mientras que si el pH < pI se carga positivamente, la solubilidad tiende a incrementarse en las dos direcciones. [32]

Según [33] cada comportamiento de las reacciones esquematizadas presenta un valor diferente de pK_a, como se detalla:

Comportamiento como base:



Comportamiento como ácido:



Las constantes se definen como se muestra a continuación:

$$pK_{a1} = -\log \frac{[\text{H}^+][\text{aminoacido}^{+-}]}{[\text{aminoacido}^-]}$$

$$pK_{a2} = -\log \frac{[\text{H}^+][\text{aminoacido}^-]}{[\text{aminoacido}^{+-}]}$$

Los aminoácidos se clasifican según la polaridad de sus cadenas laterales en cuatro clases: aminoácidos con cadenas laterales no polares o hidrófobos, aminoácidos con grupo laterales polares no cargadas o hidrófilos, aminoácidos cargados con carga positiva y aminoácidos con carga negativa.

- b) Hidratación de proteínas.-** La relación entre agua-proteína es más compleja que la solvatación de iones en solución. La cadena peptídica actúa como un grupo iónico en la interacción de ión-dipolo, mientras que los grupos polares en la interacción dipolo-dipolo y en grupos capaces de formar puentes de hidrógeno. La manera en que se agrupan las moléculas de agua alrededor de los grupos hidrofóbicos del agua, dependiendo de estos grupos se determina la compacticidad de la estructura. [34]

2.2.3. Métodos de extracción de colágeno

La extracción de colágeno se suele dar en dos etapas fundamentales: a) pretratamiento de la materia prima; y b) proceso de extracción de colágeno. El objetivo principal del pretratamiento es eliminar impurezas para mejorar la calidad del colágeno obtenido [35]. Este proceso puede ser realizado con un ácido o álcali, cuyo principal propósito es la de remover proteínas no colagénicas, además de escindir los enlaces cruzados de colágeno. [36]

Cuando se emplea un álcali, este hidroliza las proteínas, para luego eliminarla con lavados posteriores. Por esta razón el control en esta etapa debe tener un cuidado especial, porque el álcali empleado puede hidrolizar el colágeno presente en las muestras. [30]

Existen diversos métodos que son empleados para la extracción del colágeno como diferentes tipos de hidrólisis.

Según [37], existen tres tipos de hidrólisis en el colágeno.

- a) Hidrólisis Térmica.-** Consiste en aumentar la temperatura de solución del colágeno, lo que provoca una ruptura de enlaces, generando compuestos que afectan el color, sabor y olor de las soluciones.
- b) Hidrólisis Química.-** Consiste en romper la molécula utilizando ácidos o álcalis fuertes, sin seleccionar los enlaces. En este proceso se ajustará el pH de la solución con químicos que generarán sales, etc. A continuación, se describen:
- c) Método alcalino.-** Presenta una fuerte capacidad de hidrolizar fibras de colágeno, principalmente se utiliza para extraer colágeno a partir de desechos de cuero.
- d) Método Ácido.-** Se realiza con ácidos de baja concentración, los enlaces salinos y bases se destruyen causando que las fibras de colágeno no se disuelvan. Generalmente se emplean ácidos fuertes y ácidos débiles como ácido acético, ácido cítrico, etc.
- e) Hidrólisis Enzimática.-** En este proceso se emplean enzimas para romper enlaces específicos de la molécula, como la pepsina o tripsina, es un método

que degrada menos la proteína, sin embargo, su uso se ve limitado por el alto costo y la dificultad de adquirir las enzimas.

2.2.4. Terminal Pesquero de Ventanilla - Perú

El "Terminal Pesquero de Ventanilla" se encuentra en el distrito del Callao, uno de los dos principales terminales pesqueros del país, donde se comercializan productos marinos y de río provenientes de todo Perú, así como de Ecuador y Chile. Debido a su ubicación estratégica, abastece principalmente la zona norte de Lima, que incluye distritos como Comas, San Martín de Porres, Los Olivos, Independencia, Puente Piedra, Carabaylo, Ancón y Santa Rosa.

Los productos que se ofrecen en el terminal están destinados principalmente a mercados mayoristas y restaurantes. Las especies marinas de pescado que más ingresan a este terminal son: Bonito fresco, caballa, liza y merluza [38].

En la **Figura 2** se pueden ver los alrededores del Terminal Pesquero de Ventanilla en Callao.

Figura 2
Exteriores del Terminal Pesquero de Ventanilla – Callao



Diario "La República", 2020

2.3. Marco conceptual

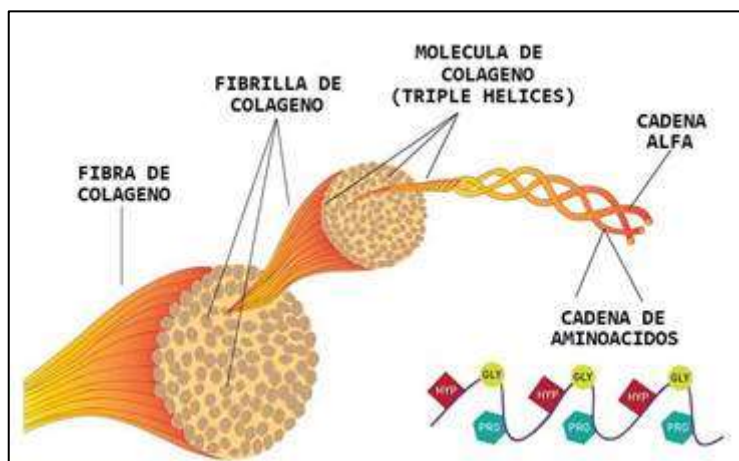
2.3.1. Colágeno

El colágeno es una proteína que forma parte del tejido conectivo. Su unidad básica está compuesta por tres cadenas polipeptídicas que contienen una secuencia repetitiva (G–X–Y) n, donde X suele ser prolina y Y, hidroxiprolina. Estas repeticiones permiten la formación de una estructura de triple hélice, que

es característica de la superfamilia del colágeno. Las cadenas laterales de los residuos X e Y se encuentran en la superficie de la hélice triple, lo que otorga a la molécula de colágeno una notable capacidad para interactuar lateralmente con otras moléculas de la matriz extracelular, lo que favorece la formación de conjuntos supramoleculares [39]. En general, todos los tipos de colágeno presentan esta estructura de triple hélice, como se muestra en la **Figura 3**.

El colágeno es la proteína fibrosa de origen animal más abundante [40], representando alrededor del 25-30% de todas las proteínas animales [41]. Forma parte de la matriz extracelular [42], constituyendo los tejidos conectivos del cuerpo, como los músculos, dientes, huesos y piel [43], además de estar presente en el tejido intersticial de casi todos los órganos [44]

Figura 3
Estructura la triple hélice del colágeno



Jurgen & et al., 2005

a) Tipos de colágeno.- Según [45] existen al menos 28 tipos de colágenos en función de la estructura de los dominios y su organización superestructural, pero el 80-90% del colágeno del cuerpo está formado por los tipos I, II y III, como se describe en la **Tabla 1 (Ver pag. N° 23)**

Tabla 1
Clasificación de tipos de colágeno

Tipo	Descripción
I	Este tipo se produce ampliamente, principalmente en el tejido conectivo, como la piel, los huesos, y tendones.
II	Este tipo de colágeno se produce prácticamente exclusivamente en el tejido del cartílago.
III	Este tipo se produce en paredes de los vasos, fibras reticulares y piel.
Otros tipos	Los otros tipos de colágeno están presentes en membranas basales de las células.

Shoulders, 2009

b) Formas de estado del colágeno.- Dependiendo la etapa de obtención y purificación que se le someta a la materia prima para obtener colágeno.

Se presenta en las siguientes formas:

- 1) **Colágeno nativo.-** Forma oriunda en que se encuentra el colágeno, sin que la proteína se haya desnaturalizado. Su unidad es el tropocolágeno, conformado por tres cadenas polipeptídicas que interaccionan. [27]
- 2) **Gelatina.-** Es el colágeno parcialmente hidrolizado, es decir, el colágeno que ha sufrido un efecto de desnaturalización parcial por cambio de temperatura o pH. La cadena de péptidos presenta 1000 aminoácidos en cada una de ellas, además, se caracteriza por ser buen espesante porque presenta un poder gelificante al mezclarse con líquidos. [27]
- 3) **Colágeno hidrolizado.-** Producto de la hidrólisis ácida o básica del colágeno, compuesto por una mezcla de péptidos de bajo peso molecular. [27]. Según [14], en la hidrólisis se rompen las cadenas de las proteínas permitiendo así la absorción por el cuerpo, las fuentes de extracción del colágeno son provenientes de los bovinos y porcinos, sin embargo, las últimas investigaciones han demostrado que el colágeno hidrolizado se encuentra en fuentes marinas. Por otro lado, el tipo y fuente de extracción son los principales factores que afectan las

propiedades del colágeno hidrolizado como el peso molecular de la cadena peptídica, la solubilidad y la actividad funcional. Su aplicación se encuentra en diversas industrias como alimentaria, farmacéutica, cosmética y biomédica.

- c) Fuentes de obtención de colágeno.-** La principal fuente de colágeno ha sido tradicionalmente los residuos generados durante el procesamiento de especies bovinas, así como de la piel, huesos y cartílagos de cerdo. Sin embargo, diversos estudios han determinado la funcionalidad del colágeno de origen marino, extraído de las pieles de peces de agua dulce y salada, como la de tiburón, entre otros.

El colágeno presente en la piel, huesos, cartílagos y escamas de vertebrados e invertebrados marinos es más biodisponible que el colágeno bovino o porcino, mostrando una mayor capacidad de absorción (hasta 1,5 veces más eficiente en el organismo) y una circulación más rápida en el torrente sanguíneo, debido a su bajo peso molecular y al tamaño reducido de sus partículas.

Además, los colágenos marinos son similares a los bovinos y porcinos en cuanto a la composición de aminoácidos y biocompatibilidad. Este colágeno puede obtenerse a partir de diversos subproductos del pescado, que se consume a nivel mundial y genera una gran cantidad de residuos, representando entre el 50% y el 70% de las materias primas originales en la industria pesquera.

En nuestra investigación, la extracción del colágeno se llevó a cabo mediante hidrólisis ácida.

Hidrólisis ácida

Se realiza con ácidos de baja concentración, los enlaces salinos y bases se destruyen causando que las fibras de colágeno no se disuelvan. Generalmente se utilizan ácidos fuertes y ácidos débiles como ácido acético, ácido cítrico, entre otros.[37]

Piel de pescado

La piel del pescado generalmente contiene colágeno tipo I con un alto grado de pureza, que ronda el 70%, variando según la edad de la especie y la temporada [46]. El colágeno extraído de la piel de los peces tiene una excelente capacidad para retener agua, pudiendo almacenar aproximadamente el 6% de su peso cuando se expone a un 63% de humedad durante 24 horas. Además, no presenta potencial irritante, lo que lo hace adecuado para aplicaciones dérmicas [47].

Espinas de pescado

El colágeno presente en las espinas de pescado exhibe características propias del colágeno tipo I, compuesto por dos cadenas $\alpha 1$ y una $\alpha 2$. El colágeno extraído de las espinas de tilapia, bagre, palometa y caballa requiere una temperatura de extracción más alta (16,6°C–19,03°C) y un tiempo de extracción más corto (73,16 horas) en comparación con el de las escamas y la piel de pescado. Sin embargo, su rendimiento de extracción es más bajo, alcanzando solo un 0,64%, en comparación con el obtenido de la piel de pescado [48]

Aplicaciones del colágeno

Según [48], el colágeno se utiliza en diferentes sectores, siendo aplicable en materiales biomédicos, farmacéutico, cosméticos y alimentario [50]. A continuación, se detalla:

Sector Cosmetológico:

Usado para brindar resistencia y elasticidad en la piel y el cabello, se encuentra en geles, lociones, mascarillas, inyecciones subcutáneas directamente en la piel y tratamientos capilares de colágeno. [51]. El colágeno es importante en la reducción de estrías, arrugas, etc., a su vez es un buen hidratante de la piel y le agrega suavidad. [37]

Sector en Materiales Biomédicos:

Utilizado como un biomaterial en la ingeniería de tejidos, permitiendo la adhesión celular, que sirve para reemplazar alguna función que realice alguna parte del cuerpo [43]. Además, se usa como esponja de colágeno, empleado en las ingenierías de tejido de cartílago [35] y tejido óseo [52].

Sector Farmacéutico:

De acuerdo con [37] utilizado para cubrir pastillas, cápsulas y en la producción de parches de heridas. Asimismo, en el ámbito de Odontología, resulta beneficioso utilizar esponjas hemostáticas de colágeno hidrolizado por su alta capacidad hemostática.

Sector alimenticio:

Utilizado en producción de gelatina, se encuentra en huesos, cortes de piel de res y sirve como materia prima para la producción de gelatina, además se puede utilizar en aditivos para embutidos, como revestimiento, que sirve para obtener productos de mejor calidad y que es libre de riesgo sanitario. Por otro lado, mejora el contenido proteico, estabiliza las grasas y sirve para acumular el agua, por ello se utiliza en la producción de carnes frías. [37]

2.3.2. *Pescado Bonito (Sarda chiliensis chiliensis)*

El pescado bonito habita en aguas superficiales, cuya temperatura que oscila entre 15° y 22°C. Esta especie marina se encuentra distribuida a lo largo del Pacífico oriental, desde Máncora en Perú hasta Talcahuano en Chile [53]

El pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) se muestra en la **Figura 4 (Ver pag. N° 27)**

Figura 4
Sarda chiliensis chiliensis



Imarpe, 2022

Características y variedades

El pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) puede llegar a medir entre 30 a 50 cm de longitud y su peso se encuentra entre 1 a 3 Kilos. El color de su cuerpo generalmente es azul acero casi alargado cubierto por diminutas escamas. Además, viven en áreas donde la temperatura varía entre 15°C y 22°C [54] Según [55] presenta la clasificación taxonómica, que se muestra en la **Tabla 2**.

Tabla 2
Clasificación taxonómica

Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Sub Phylum	Vertebrada
Super Clase	Piscis
Clase	Actinopterygii
Orden	Perciforme
Familia	Scombridae
Género	Sarda
Especie	<i>Sarda chiliensis</i>
Sub especie	<i>chiliensis</i>
Nombre común	Bonito

Imarpe, 2022

Formas de comercialización del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*)

El pescado bonito que se desembarca a nivel nacional se consume principalmente de forma directa [56] lo que se divide en:

Enlatado: Llamado conservas presenta la carne en forma entera, sólido, filete o grated en aceite; y también se puede agregar aditivos. [57]

Curado: Consiste en un salado, secado, ahumado, escabechado y fermentado del pescado. Depende principalmente del clima. [57]

Fresco: Se presenta debido al tipo de corte como es entero, eviscerado, eviscerado descabezado y filete con piel. [58]

Congelado: Tiene similitud al pescado fresco, pero se mantienen en sistemas de refrigeración. [57]

Zonas de producción del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*)

En el año 2017 se registró un reporte de la cantidad de productos que ingresa al terminal pesquero de Ventanilla, se reportó que el bonito fresco tiene una cifra de 125,800 Kg/día cuya procedencia es de las zonas pesqueras de Chimbote, Ilo, Pucusana, Huacho y Chiclayo. [59]

2.3.3. Generación de residuos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*)

El pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) es uno de los recursos oceánicos con mayor preferencia [56], tan solo en el mes de enero y febrero del 2019 a nivel nacional se capturo 4 875 TN [3], esta cifra genera aproximadamente 2 042,625 TN de residuos de bonito compuesta por cabeza, vísceras, espinas y pieles.

Características de los residuos

Características físicas: La composición física depende del tamaño y sexo [58]. En la **Tabla 3 (Ver pag. Nº 29)** se observa la composición física proximal del residuo del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*)

Tabla 3
Composición física del residuo de bonito

Componente	Promedio (%)
Cabeza	16,5
Vísceras	12,8
Espinas	8,5
Piel	3,8

Santos, 1996

Para este proyecto de tesis se utilizará las pieles y espinazos de los residuos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*)

Características químicas: En la **Tabla 4** se presenta la composición química del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*), el cual depende del sexo, edad, tamaño, la región que pertenece el cuerpo, etc.

Tabla 4
Composición química del residuo del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*)

Componentes	IMARPE(1997)	INS(2009)	Dávalos(2016)
Humedad	72,6	70,6	72,40
Proteína total	21,4	23,4	20,56
Grasa cruda	4,5	4,2	5,30
Ceniza	1,4	1,5	1,74

Llaro, 2018

2.4. Definiciones de términos básicos

Aminoácidos: Los aminoácidos son moléculas orgánicas pequeñas con un grupo amino (NH₂) y un grupo carboxilo (COOH). [60]

Colágeno: Es una macromolécula compuesta de 3 hélices con cadenas polipéptidos. La formación va representada por Gly – X –Y siendo X prolina e Y hidroxiprolina como molécula tropocolágeno estable. [61]

Descartes de recursos hidrobiológicos: Son aquellos recursos hidrobiológicos que, por su condición de alteración, descomposición o contaminación, sean enteros o por piezas, son declarados no aptos para el consumo humano. [62]

Hidrólisis: Es la descomposición química de las sustancias por el agua y depende de la química, la solubilidad, el pH y la oxidación-reducción (Eh o redox), potencial del compuesto. Puede darse mediante hidrólisis ácida, básica o enzimática. [63]

Hidrólisis ácida: Es una etapa donde se agrega un ácido al sustrato disuelto para así poder iniciar la hidrólisis. [64]

Hidrolizado de proteínas: Es una sustancia que no produce desequilibrios osmóticos ni alergias, presentan un alto valor nutritivo, no muy inferior al de la proteína de partida y presentan un sabor aceptable. [64]

Hidroxi prolina: Es un aminoácido formado por la hidroxilación postraduccional de residuos de prolina unidos al péptido, catalizada por la enzima propilhidroxilasa. [60]

Neutralización: Reacción que se produce entre disoluciones acidas y básicas, dando como resultado o producto una sal y agua. [65]

Propiedades reológicas: Son propiedades mecánicas que dan como resultado la deformación y el flujo del material en presencia de un estrés. La caracterización reológica de los alimentos aporta información importante para mejorar y optimizar los procesos de fabricación. [66]

Residuos pesqueros: Están constituidos por las mermas o pérdidas generadas durante los procesos pesqueros de las actividades de procesamiento para consumo humano directo, así como los generados durante las tareas previas realizadas en los Desembarcaderos Pesqueros Artesanales. [62]

Residuos sólidos: Son aquellas sustancias, productos o subproductos en estado sólido o semisólido que se dispone, a través de un sistema que incluya procesos tales como: minimización de residuos, segregación en la fuente,

reaprovechamiento, almacenamiento, tratamiento, transporte, transferencia y disposición final, entre otros. [67]

Segregación: Acción de agrupar determinados componentes o elementos físicos de los residuos sólidos para ser manejados en forma especial. [67]

III. HIPOTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

Hipótesis General

Es posible extraer entre el 10% – 15% de colágeno mediante la hidrólisis ácida a partir de pieles y espinazos de pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) que se generan por la comercialización en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio.

Hipótesis específica

- 1) Las pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) como materia prima presentan características fisicoquímicas aceptables para extraer colágeno mediante la hidrólisis ácida a nivel laboratorio.
- 2) El uso de ácido acético como medio de hidrólisis en concentraciones de 0,4 M y 0,6 M en un tiempo de 24 a 48 horas son los parámetros aceptables para extraer mayor porcentaje de colágeno mediante la hidrólisis ácida a nivel laboratorio.

Definición conceptual de variables:

Las variables fueron definidas como: $Y = f(X)$

Variable dependiente:

Y= Extracción del colágeno a partir de pieles y espinazos de pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*)

Variables independientes:

X_1 : Concentración de ácido acético

X_2 : Tiempo de extracción

3.1.1. Operacionalización de las variables

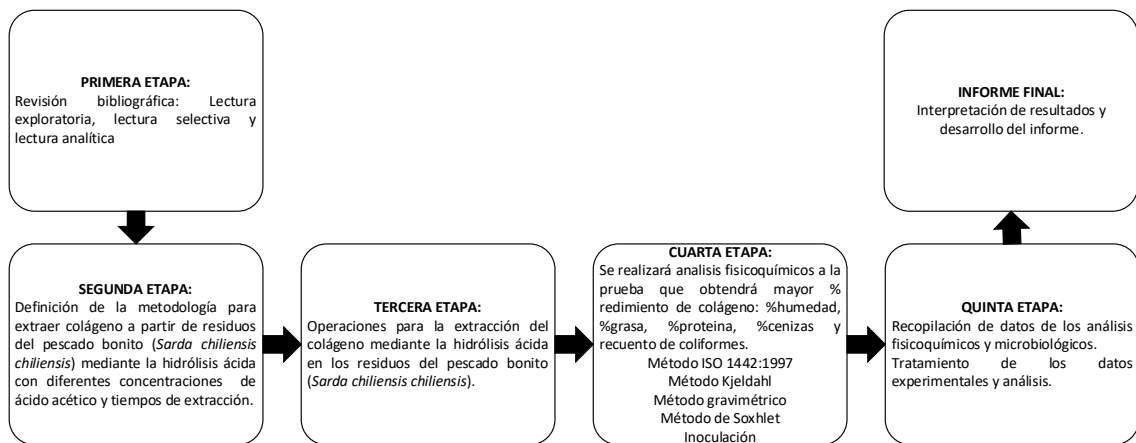
Variable Dependiente	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicadores	Método
Y= Obtención del colágeno a partir de la hidrólisis ácida de los residuos del pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>)	El colágeno es la proteína fibrosa más abundante de origen animal que se encuentra en la matriz, tejidos conectivos del cuerpo (músculos, dientes, huesos y piel) y en el tejido intersticial de casi todos los órganos. [40]	Se obtendrá a partir del proceso de hidrólisis ácida utilizando ácido acético.	Humedad Proteínas Cenizas Grasas Análisis de coliformes	% Humedad % Proteínas % Cenizas %Grasas UFC	Método ISO 1442:1997 Método Kjeldahl Método gravimétrico Método de Soxhlet AFNOR métodos validados 3M 01/7-03/99
			Peso Rendimiento	Peso % Rendimiento	Método gravimétrico
Variable Independiente	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicadores	Método
X ₁ = concentración de ácido acético.	Método realizado a baja concentración ácida, que destruye a enlaces salinos y bases, con el fin de que no se expanda ni se disuelva las fibras de colágeno. [26]	La hidrólisis ácida se efectuará variando los parámetros de concentración de ácido acético y tiempo de extracción.	Concentración	Molaridad	Método volumétrico
X ₂ = tiempo de extracción	Método realizado a baja concentración ácida, que destruye a enlaces salinos y bases, con el fin de que no se expanda ni se disuelva las fibras de colágeno. [26]	La hidrólisis ácida se efectuará variando los parámetros de concentración de ácido acético y tiempo de extracción	Tiempo	Horas	Cronómetro

IV. METODOLOGÍA DEL PROYECTO

4.1. Diseño metodológico

El diseño metodológico utilizado en la investigación es como se muestra en la **Figura 5**.

Figura 5
Etapas de la investigación



Primera etapa de la investigación: En la fase inicial de la investigación, se lleva a cabo una revisión bibliográfica que incluye lectura exploratoria, selectiva y analítica, centrada en la teoría relacionada con la variable de investigación, que en este caso será la variable X. El objetivo fue identificar argumentos científicos, antecedentes de estudios previos y fundamentos teóricos.

Segunda etapa de la investigación: En esta etapa se definió la metodología para extraer colágeno a partir de residuos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) mediante la hidrólisis ácida con diferentes concentraciones de ácido acético y tiempos de extracción)

Para extraer colágeno se utilizó una muestra conformada por pieles y espinazos en una relación de 1:1 (peso/peso) y se realizaron 30 pruebas experimentales con dos concentraciones de ácido acético (0,4 M y 0,6 M) y tiempos de extracción: 24 h, 36 h, 48 h, 60 h y 72 h

Tercera etapa de la investigación:

La etapa más importante es la tercera donde se utilizaron operaciones para extraer colágeno, mostrados en la **Figura 6 (Ver pag. N° 36)**

a) Ubicación: Los residuos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) es proveniente de la comercialización en el terminal pesquero de Ventanilla en el distrito de Ventanilla en la provincia de Callao.

b) Recepción y Transporte: Se recibieron los residuos del bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) en un cooler con bolsas de hielo para mantenerlas refrigeradas (4°C a 8°C), los cuales fueron transportados al laboratorio de Fisicoquímica de Heineken Perú.

c) Segregación: Los residuos del bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) fueron segregados por pieles, vísceras, espinazos, cabezas y aleta, de los cuales solo se utilizarán las pieles y espinazos.

d) Selección de materia prima

Pieles y Espinazos

Para la selección de la piel, se retiraron manualmente con un cuchillo las escamas del bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*).

Para los espinazos, se removieron manualmente los músculos y carnes con una escobilla.

e) Lavado y limpieza

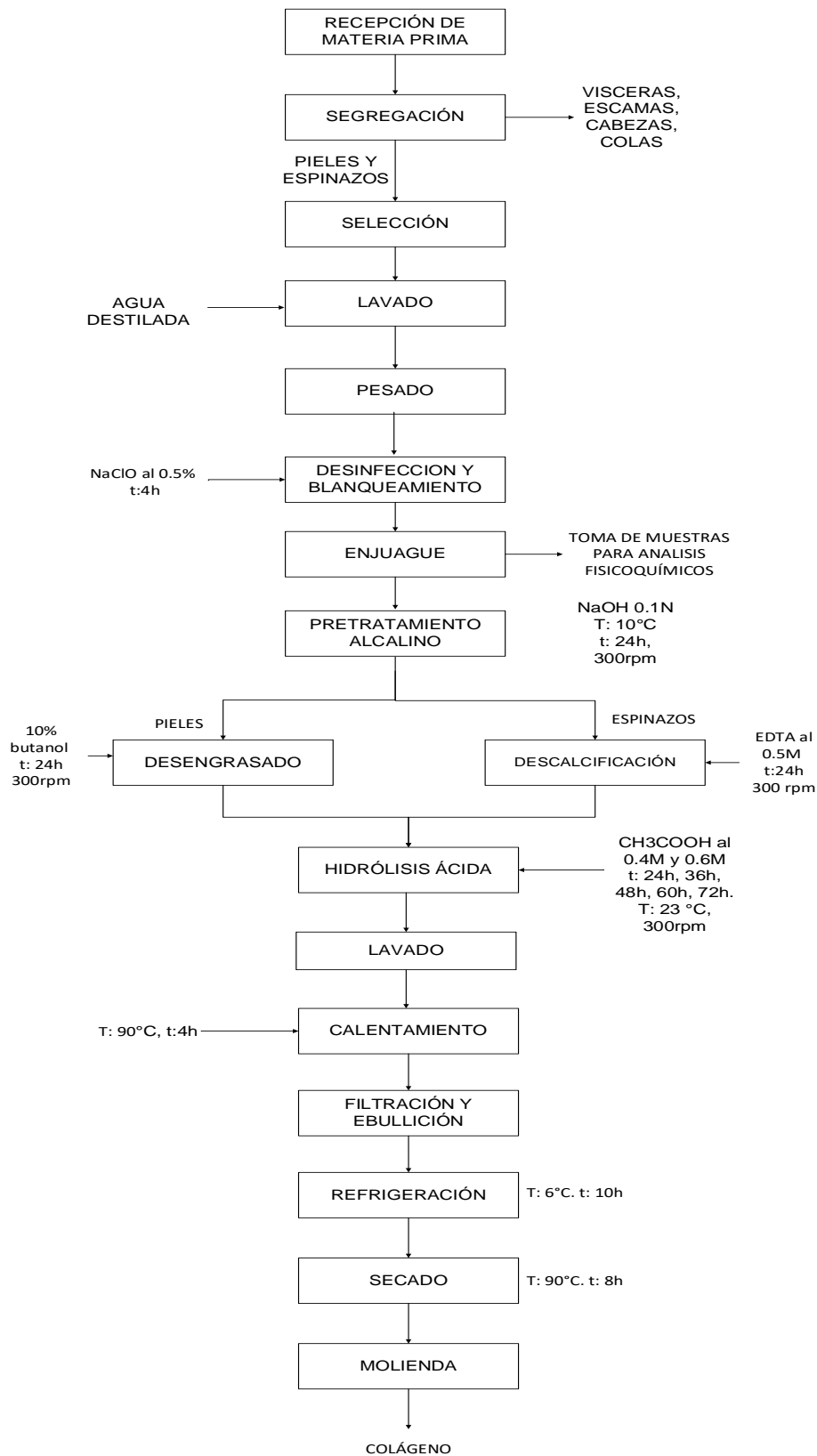
Se realizó el lavado de las pieles y espinazos con abundante agua destilada, con el fin de eliminar de las pieles y espinazos cualquier tipo de restos orgánicos o sustancias extrañas y así poder evitar cualquier tipo de interferencias en los resultados próximos.

Las muestras se dejaron secar sobre papel toalla y se pesaron.

f) Desinfección y blanqueamiento

La etapa de desinfección (piel y espinazos) y blanqueamiento (piel) es esencial para eliminar compuestos no deseados como color, grasas, microorganismos y olor propia del pescado. Para ello, se utilizó hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.5% (p/V) en un tiempo de 4 horas a una temperatura ambiente y se sumergieron las muestras en una relación de peso piel /volumen de solución 1:10.

Figura 6
Diagrama de flujo para la extracción de colágeno.



g) Enjuague del producto

Se realizó un lavado con agua destilada para la piel decolorada y espinazos, con el fin de eliminar en su totalidad el hipoclorito de sodio (NaClO) y así evitar que permanezcan trazas de este producto en las pieles tratadas.

Toma de muestras para análisis fisicoquímicos: Se seleccionó una cantidad de muestra (pieles y espinazos) para análisis fisicoquímicos: proteínas, cenizas, humedad y grasas.

h) Pretratamiento de la piel

Las muestras de piel se cortaron manualmente en trozos de aproximadamente de 1 cm x 1 cm y se sumergieron en una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0,1 N con una proporción de 1:10 (peso de piel/ solución) a una temperatura de 10°C y una agitación constante de 300 rpm durante 24 horas, esto con el fin de eliminar proteínas no colagénicas.

i) Eliminación de extracto etéreo

Se realizó solo a las pieles debido a su alto contenido de grasa y reducir su porcentaje en el colágeno final. Para ello se utilizó una solución de butanol (C_4H_9OH) al 10% (v/v) en una proporción muestra/solución de 1:10 durante 24 h con agitación constante de 300 rpm. Luego se lavó con agua destilada para finalmente eliminar la grasa.

j) Pretratamiento de los espinazos

Los espinazos se sumergieron en una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0,1N con una proporción de 1:10 (peso de piel/ solución) a una temperatura de 10°C y una agitación constante de 300 rpm durante 24 horas, esto con el fin de eliminar proteínas no colagénicas.

k) Descalcificación:

Se realizó en las espigas por su alto contenido de calcio y así tener menos impurezas en el colágeno. Se utilizó una solución de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 0,5 M muestra/solución de 1:10 (w / v) durante 24 h con una agitación de 300 rpm. Luego las espigas descalcificadas se lavaron con agua destilada.

l) Hidrólisis ácida

Pieles y Espinazos

La muestra (50 g de pieles y 50 g de espinazos) fue sumergida en una solución de ácido acético a 0,4 M, y 0,6 M a diferentes tiempos de extracción 24 h, 36 h, 48 h, 60 h y 72 h a una temperatura de 23°C y a una relación 1:10 (peso/ solución) a 300 rpm (cada 4 horas para remover).

m) Lavado

Después de culminar los tiempos, se retiraron de la solución de ácido acético las muestras de pieles y espinazos y se lavaron con agua destilada hasta que se obtuvo una solución con pH neutro (pH = 7) a una relación de 1:10 (peso muestra/ agua)

n) Calentamiento

La muestra de pieles y espinazos con agua destilada se llevaron a una estufa y se calentaron durante 4 horas a 85°C

o) Filtración y ebullición

Luego de terminar la etapa anterior, se filtraron las muestras de pieles y espinazos y se retiraron, para quedarnos con la solución acuosa. Posteriormente se hirvió hasta quedarnos con la tercera parte del volumen inicial.

p) Refrigeración

El volumen final de la solución acuosa se llevó a refrigeración (T: 6°C) durante 10 horas hasta quedarnos con una consistencia similar a la gelatina.

q) Secado

La gelatina que se formó se llevó a un horno (T: 90°C) durante 5 horas para secar el agua hasta la formación de películas muy poca densas (colágeno)

4.2. Método de la investigación

La tesis se tipifica por ser aplicada, porque se utiliza cuando el investigador implica considerar todo el conocimiento existente a profundidad para solucionar problemas específicos [68]. Por su enfoque es cuantitativo porque se realiza un análisis estadístico en base a la recolección de datos para probar una hipótesis [69]. Por su nivel es explicativo porque presenta una relación entre la variable

independiente y dependiente. Por su diseño es experimental, porque se utilizará un tratamiento para observar el efecto que se produce en la variable dependiente. [70]

4.3. Población y muestra

4.3.1. Población

La población está conformada por la cantidad de 5 Kg de pieles y espinazos de pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) para extraer colágeno, que se genera por la comercialización durante el fileteado en el Terminal pesquero de Ventanilla, ubicada en el distrito de Ventanilla – Callao.

4.3.2. Muestra

La muestra fue de 50 g de pieles y 50 g espinazos respectivamente de los residuos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) para extraer colágeno, se realizó de manera no probabilística debido a que el acopio es realizado en el mismo terminal, sin ningún plan para la segregación de dichos residuos generados.

4.4. Lugar de estudio

El desarrollo experimental de la tesis se realizó en el laboratorio de Fisicoquímica de la planta de Heineken, Huachipa – Perú.

4.5. Técnicas e instrumentos para la recolección de la información

Equipos

- a) Balanza analítica Precisa (<200 g)
- b) Potenciómetro Thermoscientific (-2 a 16)
- c) Termoagitador
- d) Refrigeradora
- e) Mufla
- f) Estufa
- g) Equipo extractor de grasas.
- h) Equipo destilador Kjeltec
- i) Equipo destilador de agua

Materiales

- a) Matraz Erlenmeyer (100 mL y 250 mL)
- b) Vaso de precipitado (250 mL, 500 mL y 1 000 mL)
- c) Bureta (50 mL)
- d) Matraz aforado (50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL, 1 000 mL)
- e) Probeta (100 mL, 250 mL, 500 mL)
- f) Pipeta (1 mL, 5 mL, 10 mL)
- g) Propipetas
- h) Espátula
- i) Botellas de vidrio con tapa
- j) Bagueta
- k) Moedor manual
- l) Cuchillos
- m) Tijeras
- n) Tabla de picar
- o) Bolsas herméticas
- p) Escobillas
- q) Colador
- r) Cooler
- s) Tapetes de plásticos
- t) Tina
- u) Papel Toalla

Reactivos

- a) Hidróxido de sodio
- b) Hipoclorito de sodio
- c) Butanol
- d) Ácido etilendiaminetetracético (EDTA)
- e) Ácido acético
- f) Agua destilada

Implementos de protección

Cofia, guantes, mascarilla, mandil para laboratorio y zapatos cerrados.

El desarrollo del presente proyecto de tesis utilizará técnicas, procedimientos e instrumentos con el propósito de conocer las condiciones de la materia prima a utilizar, para los cuales se necesitará la implementación del laboratorio con la disposición de equipos, materiales y reactivos, requeridos en cada etapa de investigación, dichas técnicas y procedimientos serán descritas a continuación:

Análisis fisicoquímicos de la materia prima

Se determinarán por análisis proximal a la materia prima inicial, de acuerdo a 71.

Determinación de humedad

Siguiendo el método oficial de la, AOAC Internacional, N° 950.46 (2005).

$$H \% = \frac{m \text{ de muestra inicial} - m \text{ de muestra final}}{m \text{ de muestra inicial}} \times 100$$

H% : Humedad

m de muestra inicial : Cantidad expresada en (g) de muestra inicial

m de muestra final : Cantidad expresada en (g) de muestra final después del secado.

Determinación de grasas

Extracción con éter: siguiendo el método oficial de la AOAC N° 960.39 (2005).

$$G \% = \frac{m \text{ final de balón} - m \text{ inicial del balón}}{m \text{ de muestra inicial}} \times 100$$

G% : Grasas

m inicial del balón : Cantidad expresada en (g) del peso inicial del balón para extracción

m final del balón : Cantidad expresada en (g) de peso final del balón después de la extracción.

m de muestra inicial = cantidad expresada en (g) del peso de muestra inicial para determinar grasas.

Determinación de proteínas

Siguiendo el método Kjeldhal: método oficial de la AOAC N° 928.08 (2005).

Factor de nitrógeno = 6,25

$$P \% = N \% * \text{factor de nitrógeno}$$

P% : Proteínas contenidas en la muestra (%)

N% : Nitrógeno contenido en la muestra (%)

Determinación de cenizas totales

Por el método gravimétrico: siguiendo el método de la AOAC N° 920.153 (2005).

$$C \% = \frac{m \text{ de muestra inicial} - m \text{ de muestra final}}{m \text{ de muestra inicial}} \times 100$$

C% : Cenizas totales

m de muestra inicial : Cantidad expresada en (g) de muestra inicial

m de muestra final : Cantidad expresada en (g) de muestra final después del calentamiento.

Análisis de rendimiento del colágeno hidrolizado

Teniendo en cuenta la muestra procesada, se utilizará la siguiente ecuación relacionando el colágeno obtenido y la cantidad de residuos iniciales. [72]

$$R \% = \frac{m \text{ de colágeno obtenido}}{m \text{ de residuos Pescado}} \times 100$$

R% : Rendimiento de colágeno

m de residuos de pescado : Cantidad expresada en (g) de pieles y espinazos a utilizarse

m de colágeno obtenido : Cantidad expresada en (g) de colágeno final.

Análisis microbiológicos de colágeno hidrolizado

Análisis de coliformes

Siguiendo el método según AFNOR métodos validados 3M 01/7–03/99

V. RESULTADOS

5.1. Resultados descriptivos

Se evaluó el rendimiento de extracción del colágeno a través de 2 concentraciones de solución de ácido acético de una proporción de 50% de pieles y 50% de espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) mediante la hidrólisis ácida.

Los resultados experimentales se muestran en la **Tabla 5 (Ver pag. Nº 44)**

Tabla 5
Datos experimentales obtenidos

Concentración de ácido acético (M)	Tiempos de extracción (h)	Peso de colágeno (g)	Rendimiento de colágeno (%)
0,4	24	9,5832	9,58
0,4	24	8,9591	8,96
0,4	24	9,2712	9,27
0,4	36	9,8451	9,85
0,4	36	9,9023	9,90
0,4	36	9,8737	9,87
0,4	48	9,9705	9,97
0,4	48	10,1320	10,13
0,4	48	10,0513	10,05
0,4	60	10,1134	10,11
0,4	60	10,1857	10,19
0,4	60	10,1496	10,15
0,4	72	10,0929	10,09
0,4	72	10,0950	10,10
0,4	72	10,0940	10,09
0,6	24	12,5423	12,54
0,6	24	12,2314	12,23
0,6	24	12,3869	12,39
0,6	36	12,8015	12,80
0,6	36	12,7438	12,74
0,6	36	12,7727	12,77
0,6	48	12,9029	12,90
0,6	48	13,1512	13,15
0,6	48	13,0271	13,03
0,6	60	13,0251	13,03
0,6	60	12,9896	12,99
0,6	60	13,0074	13,01
0,6	72	13,0598	13,06
0,6	72	13,4850	13,05
0,6	72	13,0542	13,05

Datos:

- a) **Concentración de ácido acético 0,4 M:** Se realizaron 15 experimentos y se midieron el rendimiento de extracción de colágeno (en porcentaje)
- 1) Rendimiento de extracción del colágeno (porcentaje): 9,58%; 8,96%; 9,27%; 9,85%; 9,90%; 9,87%; 9,97%; 9,94%; 9,96%; 10,11%; 10,19%; 10,15%; 10,09%; 10,10%; 10,09%
- b) **Concentración de ácido acético 0,6 M:** Se realizaron 15 experimentos y se midieron el rendimiento de extracción de colágeno (en porcentaje)
- 1) Rendimiento de extracción del colágeno (porcentaje): 12,54%; 12,23%; 12,39%; 12,80%; 12,74%; 12,77%; 12,90%; 13,15%; 13,03%; 12,99%; 13,01%; 13,06%; 13,05%; 13,05%

5.2. Resultados inferenciales

5.2.1. Prueba de normalidad

Prueba de hipótesis general:

Hipótesis general: Es posible extraer entre el 10% – 15% de colágeno mediante la hidrólisis ácida a partir de pieles y espinazos de pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) que se generan por la comercialización en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio.

Hipótesis nula (Ho): No es posible extraer entre el 10% – 15% de colágeno mediante la hidrólisis ácida a partir de pieles y espinazos de pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) que se generan por la comercialización en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio.

Hipótesis alterna (Ha): Si es posible extraer entre el 10% – 15% de colágeno mediante la hidrólisis ácida a partir de pieles y espinazos de pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) que se generan por la comercialización en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio.

Primero, se evaluó la distribución de los datos experimentales:

Ho : Los datos tienen una distribución normal ($p > 0,05$)

Ha : Los datos no tienen una distribución normal ($p < = 0,05$)

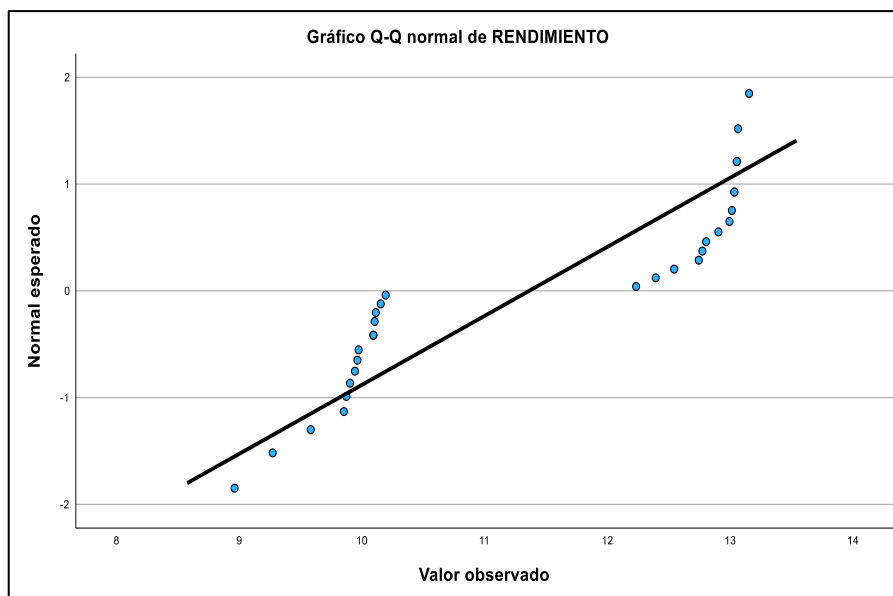
Debido a que se tienen 30 datos (menores a 50), se utilizó la prueba estadística de Shapiro Wilk para evaluar la normalidad de una distribución de datos.

Tabla 6
Pruebas de normalidad

	Kolmogorov–Smirnov ^a			Shapiro–Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
RENDIMIENTO	0,275	30	< 0,001	0,790	30	< 0,001

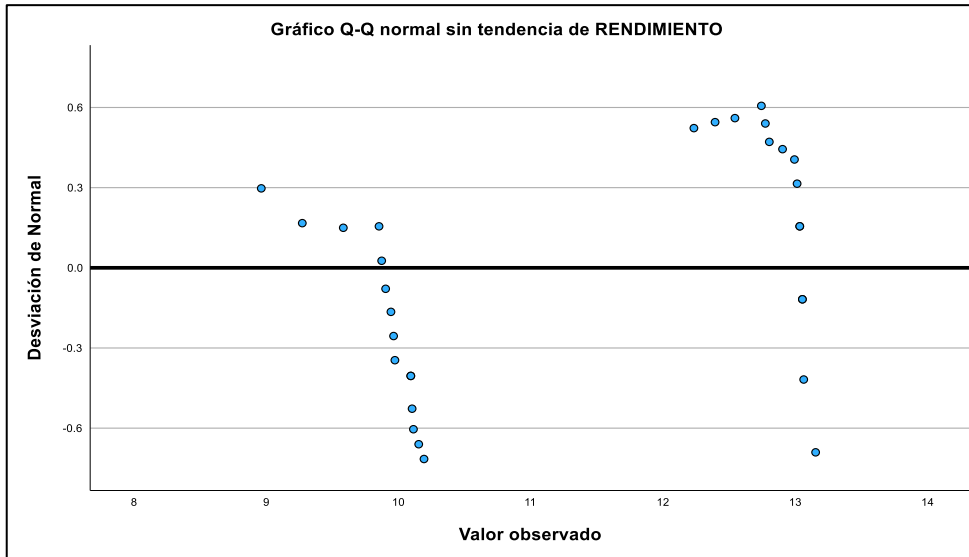
En la **Tabla 6**, se observa que el valor de significancia es menor a 0,001, siendo menor a 0,05, por lo que los datos no tienen una distribución normal y requieren pruebas no paramétricas para definir relaciones entre grupos.

Figura 7
Gráfico Q–Q normal de Rendimiento



De acuerdo con la **Figura 7**, se aprecia que los datos no logran ser ajustados por una distribución normal.

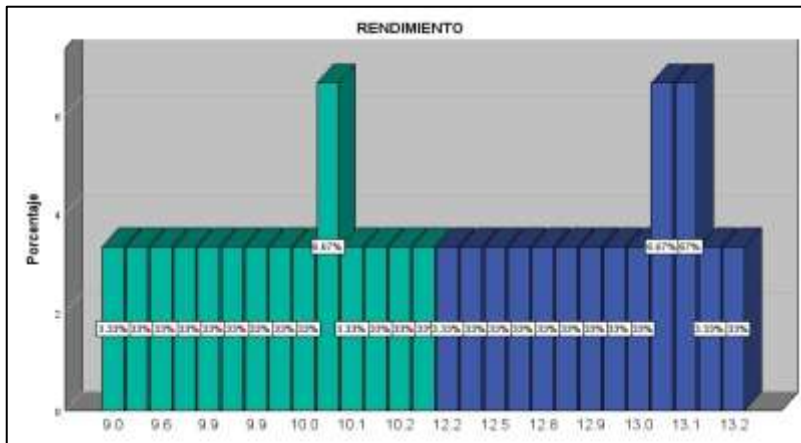
Figura 8
Gráfico Q-Q normal sin tendencia de Rendimiento



En la **Figura 9 (Ver pag. N° 47)**, nos muestra que el rendimiento obtenido del colágeno se encuentra entre el 9% y 13,2% siendo predominante en el 11,2%

En la **Figura 10**, se puede observar el porcentaje de rendimiento obtenido para cada experimento, para 0,4 M (color verde) y para 0,6 M (color azul)

Figura 10
Gráfico de barras



Tras determinar que nuestros datos son no paramétricos, se utilizó la prueba no paramétrica de Rho de Spearman para medir la correlación entre nuestras variables, ver **Tabla 7**

Tabla 7
Tabla de correlación para datos no paramétricos.

		CONCENTRACIÓN	RENDIMIENTO
Rho de Spearman	CONCENTRACION	Coefficiente de correlación	1,000
		Sig. (bilateral)	0,867**
	RENDIMIENTO	N	30
		Coefficiente de correlación	0,867**
		Sig. (bilateral)	< 0,001
		N	30

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral)

Según [73] para interpretar el coeficiente de correlación se puede utilizar la escala mostrada en la **Tabla 8 (Ver pag. N° 49)**

Tabla 8
Valores del coeficiente de correlación

Valor	Significado
-1	Correlación negativa grande y perfecta
- 0,9 a - 0,99	Correlación negativa muy alta
- 0,7 a - 0,89	Correlación negativa alta
- 0,4 a - 0,69	Correlación negativa moderada
- 0,2 a - 0,39	Correlación negativa moderada
- 0,01 a - 0,19	Correlación negativa baja
0	Correlación nula
0,01 a 0,19	Correlación positiva muy baja
0,2 a 0,39	Correlación positiva baja
0,4 a 0,69	Correlación positiva moderada
0,7 a 0,89	Correlación positiva alta
0,9 a 0,99	Correlación positiva muy alta
1	Correlación positiva grande y perfecta

Campos, 2015

Finalmente, en la **Tabla 7 (Ver pag. N° 48)** nos indica que el coeficiente de correlación es 0,867 que se encuentra en el intervalo de 0,7 a 0,89, lo cual significa que existe correlación positiva alta entre los grupos, por lo tanto, los datos en cada grupo del 0,4 M y 0,6 M, guardan relación entre sí de forma independiente.

Por lo tanto, es aceptable la hipótesis alterna.

Ha : Si es posible extraer entre el 10% – 15% de colágeno mediante la hidrólisis ácida a partir de pieles y espinazos de pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) que se generan por la comercialización en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados.

- 1) El rango de extracción de colágeno en pieles y espinazos según nuestros datos experimentales están entre el 9% y 13,2%, los cuales se asemejan a la hipótesis general propuesta.
- 2) Según las pruebas experimentales, en el acondicionamiento y el tratamiento de materia prima (pieles y espinazos) fueron manipulables y aceptables para el método de extracción de colágeno porque estas se mantuvieron homogéneas a pesar de que se agregaron ácidos y bases.
- 3) El ácido acético utilizado durante la hidrólisis ácida a una concentración de 0,4 M, extrajo un mayor rendimiento de colágeno del 10,2% a 60 horas, que fue un parámetro diferente al rango de tiempo planteado inicialmente, sin embargo, para una concentración de 0,6 M si hubo una coincidencia con la hipótesis, porque se extrajo un valor máximo de colágeno de 13,03% a 48 horas.

6.2. Contrastación de los resultados con otros estudios similares.

- 1) La hidrólisis ácida aplicada en nuestra investigación brindó un resultado máximo del 13,03% de rendimiento de colágeno a partir de pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) usando ácido acético al 0,6 M en un tiempo de 48 horas, mientras [22] en su trabajo de tesis titulado "Obtención de colágeno a partir de los residuos de pescado provenientes del mercado de abastos del distrito de Huacho" utilizó un medio básico (hidróxido de sodio) a una concentración de 0,4 M en la que obtuvo un máximo rendimiento de 11,28% de colágeno.
- 2) Nuestra investigación aplicó un tratamiento de hidrólisis ácida a partir de una muestra inicial donde estuvo formada por pieles y espinazos bajo una relación de 1:1 (peso/ peso) para extraer un mayor rendimiento de colágeno el cual resultó 13,02%, a contrastación de [17] que en su artículo "*Optimization of the Extraction of Acid-Soluble Collagen from Byproducts Red Tilapia (*Oreochromis spp*) using Response Surface Design*" logró un

máximo rendimiento de colágeno de 0,88% en pieles y 2,1% en espinas trabajando cada muestra por separado y usando el mismo tratamiento de hidrólisis ácida.

- 3) El método utilizado por [19] en su tesis de grado titulado “*Utilización de medio ácido para la extracción de colágeno de la piel del Dorado (Coryphaena Hippurus)*” usaron ácido láctico al 2% de concentración en la etapa de la hidrólisis ácida con un tiempo óptimo de extracción de 48 horas, en la que obtuvieron un máximo rendimiento de 8,4% de colágeno, mientras que en nuestro trabajo de investigación, en el tratamiento de hidrólisis ácida usamos ácido acético, donde los parámetros óptimos fueron de 0,6 M y 48 horas para extraer un mayor porcentaje de 13,02% de colágeno.

6.3. Responsabilidad ética de acuerdo a los reglamentos vigentes.

La presente tesis fue elaborada de acuerdo a lo señalado en el Reglamento del Código de Ética de la Investigación de la UNAC, Resolución de Consejo Universitario N° 260–2019–CU, con el objetivo que la información plasmada en esta investigación sirva para investigaciones posteriores. Por lo tanto, los autores se responsabilizan por la información emitida en este documento.

VII. CONCLUSIONES

- 1) Se demostró que fue posible extraer colágeno con un rendimiento de hasta 13,05% mediante la hidrólisis ácida a partir de pieles y espinazos en una relación de peso 1:1 provenientes de la comercialización del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) usando ácido acético a nivel laboratorio.
- 2) Se determinaron que las pieles contienen 63,3% de humedad, 0,75% de cenizas, 39,19% de proteínas y 3,19% de grasas; asimismo, los espinazos presentaron 6,75% de humedad, 25,8% de cenizas, 17,81% de proteínas y 9,54% de grasas en el pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) siendo estas las características fisicoquímicas aceptables como materia prima para extraer colágeno a nivel laboratorio.
- 3) Se determinaron que los parámetros óptimos para obtener un máximo rendimiento de colágeno del 13,05% fue usando 0,6 M de ácido acético con un tiempo de extracción de 48 horas a partir de una relación peso 1:1 de pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*).

VIII. RECOMENDACIONES

- 1) La hidrólisis ácida como método de extracción puede causar desnaturalización de la proteína del colágeno por lo cual requiere un ajuste cuidadoso de concentración del ácido y tiempo de extracción para evitar pérdidas en el rendimiento del producto, por ende, se recomienda aplicar otros métodos de extracción que presenten una mejor selectividad con el fin de extraer una mayor cantidad de colágeno.
- 2) Se recomienda investigar la eficiencia del proceso utilizado en residuos de diferentes tipos de pescado, con el fin de determinar parámetros óptimos en la extracción de colágeno.
- 3) En nuestras pruebas experimentales durante la etapa de hidrólisis ácida se utilizaron como muestras iniciales pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) en relación 1:1 (peso/peso), no obstante, se recomienda utilizar diferentes proporciones en peso a las utilizadas en la presente investigación, con el fin de optimizar el proceso de extracción.
- 4) Se recomienda evaluar la eficiencia del proceso utilizando los otros residuos del mismo tipo de pescado como cabezas y escamas, además de considerar diferentes proporciones en peso.
- 5) Se recomienda aplicar tratamientos físicos y químicos para eliminar o reducir el color y olor del colágeno hidrolizado con el fin de brindar una característica aceptable al consumidor como producto final.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. FAO. *El estado de la inseguridad aliimentaria en el mundo*. Roma : s.n., 2014.
2. PRODUCE. *Estadístico Pesquero y acuicola*. 2016.
3. IMARPE. *Indicadores de la pesqueria pelagica*. 2019.
4. FAO. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. Roma : Hacia la transformación azul, 2022.
5. MINISTERIO DE LA PRODUCCIÓN. *Residuos de la pesca: Aprovechamiento y valor agregado*. Lima, Perú : Vtic Pesca, 2018.
6. DEL CARPIO, Luis, et al. *El mercado de productos pesqueros en la región metropolitana de Lima*. s.l. : INFOPECA, 2010. ISSN 1688-7085.
7. OCEANA. [En línea] 27 de Julio de 2016. [Citado el: 17 de Setiembre de 2024.] <https://peru.oceana.org/blog/terminales-pesqueros-como-se-distribuyen-los-productos-marinos-que-llegan-lima/>.
8. PRODUCE. [En línea] [Citado el: 19 de Setiembre de 2024.] <https://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/en/k2/preciobonito>.
9. ADDAD, Sourour, et al. *Isolation, Characterization and Biological Evaluation of Jellyfish Collagen for Use in Biomedical Applications*. Francia : Marine Drugs, 2011. 1660-3397.
10. COLAGENOS.INFO. *Datos y Estadísticas relevantes sobre el colageno*. [En línea] <https://colagenos.info/datos-y-estadisticas-relevantes-sobre-el-colageno/>.
11. VERITRADE. Hidrolizado de proteínas. [En línea] 2020. [Citado el: 23 de Setiembre de 2024.] <https://business2.veritradecorp.com/es/mis-busquedas>.
12. RETEMA. [EN LÍNEA] 01 de Febrero de 2021. [Citado el: 15 de Setiembre de 2024.] <https://www.retema.es/actualidad/industria-pesquera-ue-produce-52-millones-toneladas-residuos-anuales>.
13. GESTIÓN.Mercado de suplementos nutricionales crece 20%. [En línea] 2020. [Citado el: 24 de Setiembre de 2024.] <https://gestion.pe/economia/empresas/mercado-de-suplementos-nutricionales-crece-20-vitagel-colageno-noticia/>.
14. Piguave, Dayanna. *Extracción de colágeno a partir de la piel del pescado bonito (Sarda Sarda) y Trucha (Oncorhynchus mykiss)*. Guayaquil, Ecuador.Universidad Agraria del Ecuador.2021
15. GÓMEZ, PAULA, HERNÁNDEZ, JOAQUÍN Y ORTEGA, RODRIGO. *Obtención y caracterización de colágeno del pez de agua dulce Prochilodus magdalenae: aplicación en películas biodegradables*. Cartagena de India : Información Tecnológica, 2023. ISSN:0718-0764.

16. TKACZEWSKA, Joanna, et al. *Characterization of carp (Cyprinus carpio) skin gelatin extracted using different pretreatments method*. Cracow, Poland : s.n., 2018.
17. QUINTERO, Julian, et al. *Optimization of the Extraction of Acid-Soluble Collagen from Byproducts Red Tilapia (Oreochromis spp) using Response Surface Design*. Medellin, Colombia : Universidad de Antioquia, 2017.
18. CHENG, Samantha. *Extraction of collagen from fish wastes*,. negeri perak, malasia : s.n., 2016.
19. GARCIA, Jennifer, et al. *Utilización de medio ácido para la extracción de colágeno de la piel del dorado (Coryphaena hippurus)*. Manta : Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, 2013.
20. CASTILLO, Gianella. *Obtención de colágeno a partir de la cabeza de paiche(Arapaima gigas)*. Lima, Perú : Universidad Nacional agraria la molina, 2022.
21. CAMACUARI, Caroline, et al. *Obtención del colágeno a partir de los residuos del bonito (Sarda chiliensis chiliensis) mediante hidrólisis alcalina*. Huacho, Perú : Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, 2021.
22. SANTOS, Carlos. *Obtención de colágeno a partir de los residuos de pescado provenientes del mercado de abastos del distrito de huacho*. Huacho, Lima : Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, 2020.
23. ROMERO, Renzo. *Obtencion de gelatina de piel de perico (Coryphaena hippurus) y caracterizacion de sus propiedades quimicas*. Lima, Peru : s.n., 2016.
24. YUPANQUI, Melisa. *Reciclaje de los residuos industriales de jurel por medio de la tecnica de hidrólisis*. Trujillo, Peru : Universidad Nacional de Trujillo, 2013.
25. ACUÑA, Flora. *Quimica Organica*. San Jose : EUNED, 2006.
26. LOPEZ, Elisa. *Aminoácidos y proteínas*. Arequipa - Perú : Universidad Nacional San Agustin, 2014.
27. BASTIDAS, María. *Diseño de un proceso industrial para la obtención de colágeno a partir de las escamas recogidas en riobamba*. Riobamba-Ecuador : Escuela superior politécnica de chimborazo, 2022.
28. MINH, Le, et al. *Isolation and characterization of acid-soluble collagen from the scales of marine fishes from Japan and Vietnam..* 264-270, Japón : Food chemistry, 2014, Vol. 149. ISSN 03088146.
29. WADE, Lester. *Química Orgánica*. Mexico : Pearson educación, 2011. ISBN 978-607-32-0793-5.
30. BONMAT, Limorte, et al. *Estudio del proceso de transformación del colágeno en gelatina.*, G. 39-40 pag. 135-146, España : Revista UM, 2010.

31. DICKINSON, E., et al. *Colloids in Food*. Lincoln, Reino Unido : Applied Science, 1982.
32. TANFORD, C., et al. *Physical chemistry of macromolecules*. New York, EEUU : s.n., 1961.
33. TANFORD, C., et al. *Physical chemistry of macromolecules*. New York, EEUU : s.n., 1961.
34. ELUK, Dafna. *Modelado Reocinético de la Maduración de*. Santa Fe, Argentina : s.n., 2006.
35. MOFIEED, Ahmed, et al. *Collagen extraction and recent biological activities of collagen peptides derived from sea-food waste: A review*. 100315, s.l. : Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2020, Vol. 18.
36. DU, L., et al. *Physicochemical and functional properties of gelatins extracted from turkey and chicken heads*. 989-1000, Canadá : Poultry Science, 2013, Vol. 92(9). <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03161>.
37. RUIZ, María. *Obtención del colágeno hidrolizado a partir de huesos de llama desechados en el matadero municipal de Yunchara, Departamento de Tarija*. Tarija, Bolivia : Universidad Autónoma Juan Misael Saracho, 2018.
38. VIEIRA, Roberto. *Visita de inspección al Terminal Pesquero de Ventanilla*. Lima : s.n., 2017.
39. JURGEN, Brinckmann, et al. *Collagen, Primer in Structure, Processing and Assembly*. s.l. : Springer Nature, 2005
40. MUYONGA, J.H., et al. *Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*)*. 2004. págs. 81-89.
41. BAE, Inwoo, et al. *Biochemical properties of acid-soluble collagens extracted from the skins of underutilised fishes*. 2008. pág. 1.
42. GUZMAN, N., et al, D. *El colageno*. España : Tiempos Medicos, 2002.
43. POTAROS, Thanunya, et al. *Characteristics of collagen from Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods*. 2009. págs. 584-593.
44. GELSE, Klaus, et al. *Collagens - structure, function, and biosynthesis*. 2003. págs. 1531-1546.
45. SHOULDERS, Matthew, et al. *Collagen structure and stability*. 929-958, Wisconsin : Annual review of biochemistry, 2009, Vol. Vol. 78. doi:10.1146/annurev.biochem.77.032207.120833.
46. CHINH, N., et al. *Characterization of Collagen Derived From Tropical Freshwater Carp Fish Scale Wastes and Its Amino Acid Sequence*. s.l. : Natural Product Communications, 2019. 1934578X1986628.

47. CUMMING, Mathew., et al. *Isolation and Characterisation of Major and Minor Collagens from Hyaline Cartilage of Hoki (Macruronus novaezelandiae)*. s.l. : Marine Drugs, 2019. Vol. 17, No. 4, 2019, pp. 223-224.
48. KIMURA, Miyauchi, et al. *Scale and bone type I collagens of carp (Cyprinus carpio)*. s.l. : Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 1991. Vol. 99, No. 2, 1991, pp. 473-476.
49. RIESLE, J., et al. *Collagen in Tissue-Engineered Cartilage: Types, Structure and Crosslinks*. 313-327, s.l. : Journal of Cellular Biomechanics, 1998, Vol. 71.
50. BITAR, Moustafa., et al. *Effect of multiple unconfined compression on cellular dense collagen scaffolds for bone tissue engineering*. 237-244, s.l. : Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2007, Vol. 18.
51. SERRANO, Jenifer. *Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteado de tilapia (Oreochromis sp) y cachama (Piaractus brachypomus)*. Bogota D.C, Colombia : Universidad Nacional de Colombia, 2011.
52. DU, L., et al. *Physicochemical and functional properties of gelatins extracted from turkey and chicken heads*. 989-1000, Canadá : Poultry Science, 2013, Vol. 92(9). <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03161>.
53. CHIRICHIGNO, Fonseca, et al. *Catálogo comentado de los peces marinos del Perú*. Lima : IMARPE, 2001.
54. IMARPE. *Bonito*. Lima, Peru : s.n., 2002.
55. IMARPE. *Catálogo digital de la biodiversidad acuática del Perú*. [En línea] 2022. <https://biodiversidadacuatica.imarpe.gob.pe/Catalogo/Especie?id=122>
56. OCEANA. OCEANA. [En línea] 2016. <https://peru.oceana.org/es/blog/como-evoluciono-el-abastecimiento-del-bonito-en-las-ultimas-decadas>.
57. GARCIA , Jhony. *Los productos hidrobiológicos para consumo humano directo como principales fuentes de alimentación en el Perú*. Lima, Perú : s.n., 2004.
58. LLARO, Joselyn. *Elaboración de trozos de bonito (Sarda chiliensis chiliensis) salados, deshidratados, ahumados y envasados al vacío*. Lima, Peru : s.n., 2018.
59. DAVILA, Anderson. *Visita de inspección al terminal pesquero de Ventanilla*. Lima, Perú : s.n., 2017.
60. HUANCA, Maria. *Recuperación de colágeno de desechos de sabalo*. La Paz- Bolivia : s.n., 2014.
61. MATHEWS, C., et al. *Bioquímica*. España : s.n., 2002.
62. PRODUCE. *Decreto supremo que modifica el Reglamento del procesamiento de descartes y residuos de recursos hidrobiológicos*. Lima : s.n., 2011.

63. MURPHY, Bryan, et al. R. *Introduction to Environmental Forensics*. 2007.
64. BENITEZ, Ricardo, et al. *Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones*. 2008. págs. 227-232.
65. AZA, Sebastian. *Estudio de prefactibilidad de la producción de colágeno hidrolizado a partir de residuos de trucha (Oncorhynchus mykiss) provenientes de la acuicultura y congelado* . 2023.
66. SAHIN, Serpil, et al. Rheological Properties of Foods. *Physical Properties of Foods* . New York : Food Science Text Series, 2006, págs. 39-105.
67. MINAM. *Diagnóstico de los Residuos Sólidos en el Perú*. 2013.
68. OECD. *Guía para la recopilación y presentación de información sobre la investigación y el desarrollo experimental*. España : Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología, FECYT, 2015.
69. HERNÁNDEZ, Roberto, et al. *Metodología de la Investigación*. Mexico : McGRAW-HILL , 2014. : 978-1-4562-2396-0.
70. BONNET, Oscar, et al, N. *Proyecto de investigación y tesis. Guía para su elaboración*. Cuba : MediSur, 2023, Vol. 21. 1727-897X.
71. ITURBE, Francisca, et al, *Análisis de alimentos. Fundamentos y técnicos*. Universidad Nacional Autónoma de México, 2011.
72. SHYNI, K., et al. *Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (Katsuwonus pelamis)*,. Cochin, India : Food Hydrocolloids, 2014. 68-76.
73. CAMPOS, Francisco, et al, *Correlación entre Actividades de Interacción Social Registradas con Nuevas Tecnologías y el grado de Aislamiento Social en los Adultos Mayores*. México, 2015.

ANEXOS

Anexo 1
Matriz de consistencia

**“EXTRACCIÓN DE COLÁGENO A PARTIR DE PIELES Y ESPINAZOS DEL PESCADO BONITO (*Sarda chiliensis chiliensis*)
PROVENIENTE DEL TERMINAL PESQUERO DE VENTANILLA – CALLAO MEDIANTE LA HIDRÓLISIS ÁCIDA A NIVEL
LABORATORIO”**

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	VARIABLES DEPENDIENTES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODO
¿Será posible extraer colágeno a partir de la hidrólisis ácida de pieles y espinazos que se generan por la comercialización del pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>) en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio?	Extraer colágeno a partir de la hidrólisis ácida de pieles y espinazos que se generan por la comercialización del pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>) en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio	Es posible extraer entre el 10% - 15% de colágeno mediante la hidrólisis ácida a partir de pieles y espinazos de pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>) que se generan por la comercialización en el terminal pesquero de Ventanilla – Callao a nivel laboratorio.	Y= Extracción del colágeno a partir de pieles y espinazos de pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>)	Humedad Proteínas Cenizas Grasas UFC Peso Rendimiento	%Humedad %Proteínas %Cenizas %Grasas Análisis de coliforme Peso %Rendimiento	Método ISO 1442:1997 Método Kjeldahl Método gravimétrico Método de Soxhlet AFNOR métodos validados 3M 01/7-03/99 Método gravimétrico
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVO ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICA	VARIABLES INDEPENDIENTES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODO
¿Cuáles son las características fisicoquímicas de pieles y espinazos del pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>) como materia prima para extraer colágeno mediante la hidrólisis ácida a nivel laboratorio?	Determinar las características fisicoquímicas de pieles y espinazos del pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>) como materia prima para extraer colágeno mediante la hidrólisis ácida a nivel laboratorio.	Las pieles y espinazos del pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>) como materia prima presentan características fisicoquímicas aceptables para extraer colágeno mediante la hidrólisis ácida a nivel laboratorio.	X ₁ = Concentración de ácido acético.	Concentración	Molaridad	Método volumétrico
¿Cuáles son los parámetros de la hidrólisis ácida para extraer mayor porcentaje de colágeno a partir de pieles y espinazos del pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>) a nivel laboratorio?	Determinar los parámetros de la hidrólisis ácida para extraer mayor porcentaje de colágeno a partir de pieles y espinazos del pescado bonito (<i>Sarda chiliensis chiliensis</i>) a nivel laboratorio.	El uso de ácido acético como medio de hidrólisis en concentraciones de 0.4M y 0.6M en un tiempo de 24 a 48 horas son los parámetros aceptables para extraer mayor porcentaje de colágeno mediante la hidrólisis ácida a nivel laboratorio.	X ₂ = Tiempo de extracción.	Tiempo	Horas	Cronómetro

Anexo 2

Instrumentos validados

a) Materiales usados en la metodología



a)



b)



c)



d)

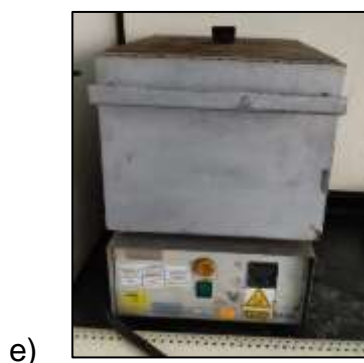


e)



Nota : a) Probetas y pipetas; b) Dispensador para volumetría; c) Matraces; d) Espátula; e) Mortero; f) cuchillo; g) Tabla de picar; h) Bolsas ziploc; i) Escobilla; j) Colador; k) Cooler; l) Tapers; m) Tina.

b) Equipos usados en la metodología



Nota : a) Estufa, b) Equipo de medición de proteínas por método Kjeldahl, c) Equipo extractor de grasas, d) Balanza electrónica, e) mufla f) Termoagitador

c) Certificados de calibración de equipos



LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE ACREDITACIÓN INACAL - DA
CON REGISTRO N° LC - 037



INACAL
DA - Perú
Laboratorio de Calibración
Acreditado

Regimen TS/C - 007 1 de 4

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
Laboratorio de Masa

IT-46a 13
BL23
1988
DICIEMBRE - 2023

Este Certificado de Calibración evidencia la trazabilidad del proceso de calibración con patrones Nacionales o Internacionales, los cuales representan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

TECHNICAL SERVICE GROUP S.A.C. como organismo de evaluación de la conformidad realiza servicios de calibración, a la vez que calibra y mantiene sus patrones con la finalidad de garantizar la trazabilidad de las mediciones.

Los resultados mostrados en el presente certificado son válidos únicamente para el instrumento calibrado y se refieren al momento y condiciones en que fueron ejecutadas las mediciones.

Con el objeto de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario debe recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados, quien podría definir la frecuencia de calibración en función al uso, conservación y mantenimiento del instrumento de medición.

TECHNICAL SERVICE GROUP S.A.C. no se responsabiliza por cualquier daño derivado del uso inadecuado del instrumento calibrado, ni de la incorrecta interpretación de los resultados aquí declarados.

Solicitante : HEINEKEN PERÚ S.A.C.

Dirección : CALLE LOS LAURELES 131
SANTA MARÍA DE HUACHIPA

Instrumento : BALANZA

Fabricante/Marca : PRECISA

Modelo : LT220A SCS

Número de Serie : 7002422

Procedencia : SUIZA

Identificación : NO INDICA

Fecha de calibración : 2023-12-29

Fecha de emisión : 2024-01-03

Lugar de calibración : ÁREA DE FÍSICOQUÍMICA - HEINEKEN PERÚ S.A.C.

MÉTODO DE CALIBRACIÓN / PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN

Calibración por comparación empleando pesas patrón de acuerdo al PC-011 - Procedimiento de calibración de balanzas de funcionamiento no automático clase I y clase II - SNM - INDECOPI - 4ª Edición - Abril 2010.

Sello	Responsable Técnico	Responsable del Laboratorio
 <p>FORM-57 / 3ª Versión, Agosto 2020</p>	 <p>Luis E. Velásquez López</p>	 <p>José A. Gallegos Rimachi</p>

TECHNICAL SERVICE GROUP S.A.C.
Calle San Lucas N° 117 - M. 203 - Lima 25
Teléfono: +51 1 461 5051
E-mail: ventas@tsgcaliperu.com
www.tsgcaliperu.com

Este documento no puede ser reproducido total o parcialmente, salvo autorización expresa de TECHNICAL SERVICE GROUP S.A.C. El presente documento consta de un (1) folio en el total y sus líneas correspondientes.



Certificado de Calibración

CALIBRATION CERTIFICATE

Laboratorio Temperatura Código N° E188-L1-058A-2024-2
 Laboratory Temperature Code N°

ISO / IEC 17025

Estos resultados están relacionados únicamente con el ítem descrito en este certificado. [These results are only related to the item described in this certificate.]

Es responsabilidad del cliente establecer la frecuencia de calibración de su instrumento de acuerdo a sus propios usos y exigencias. [It is the customer's responsibility to establish the calibration frequency of their instrument, according to their own uses and requirements.]

LO JUSTO S.A.C. no se hace responsable por los perjuicios que pueda ocasionar el uso incorrecto o inadecuado del instrumento aquí o de este documento. [LO JUSTO S.A.C. is not responsible for any damage that may be caused by the incorrect or inappropriate use of the instrument described here or of this document.]

Este certificado se emite de manera electrónica. Si existe alguna duda, en la veracidad del presente certificado podrá consultarlo directamente a través de su dispositivo electrónico con el código QR. También puede consultar en el E-mail lojusto@lojusto.com
 This certificate is issued electronically. If there is any doubt, the veracity of this certificate can be consulted directly through your electronic device with the QR code. You can also consult in the E-mail lojusto@lojusto.com

- a. Solicitante: **HEINEKEN PERU S.A.C.**
Applicant
- b. Dirección solicitante: **Av. La Paz N° 129 - Santa María de Huachipa - Lurigancho**
Applicant address
- c. Instrumento de medida: **Estufa**
Measuring instrument
- d. Marca: **Binder**
Manufacturer / Brand
- e. Modelo: **ED 53**
Model
- f. Número de serie: **06-00375**
Serial Number
- g. Identificación: **FQ-ESTUF-01**
Internal code
- h. Lugar de calibración: **Laboratorio de Físicoquímica**
Calibration Place
- i. Fecha de calibración: **2024-05-31 AL 2024-06-01**
Calibration Date
- j. Supervisor de Laboratorio: **Aguilar Mamani, Johnny J.**
Laboratory Supervisor
Supervisor de Laboratorio
Laboratory Supervisor
- k. **Signatario autorizado:**
Authorized signatory



Jose Luis Rosales Saavedra
 CONTROL OPERACIONES
 Fecha: 2024/08/17 07:30



Este certificado de calibración sólo puede ser difundido completamente y sin modificaciones. Los extractos o modificaciones requieren la autorización de la Dirección de LO JUSTO S.A.C.
 Certificados sin firma digital carecen de validez.

FT00-INRE-Edición digital 00



CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
Laboratorio de Metrología Química

OT-438-23
QU23
1960
NOVIEMBRE - 2023

Este Certificado de Calibración evidencia la trazabilidad del proceso de calibración con patrones Nacionales o Internacionales, los cuales representan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).

TECHNICAL SERVICE GROUP S.A.C. como organismo de evaluación de la conformidad realiza servicios de calibración, a la vez que calibra y mantiene sus patrones con la finalidad de garantizar la trazabilidad de las mediciones.

Los resultados mostrados en el presente certificado son válidos únicamente para el instrumento calibrado y se refieren al momento y condiciones en que fueron ejecutadas las mediciones.

Con el objeto de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario debe recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados, quien podría definir la frecuencia de calibración en función al uso, conservación y mantenimiento del instrumento de medición.

TECHNICAL SERVICE GROUP S.A.C. no se responsabiliza por cualquier daño derivado del uso inadecuado del instrumento calibrado, ni de la incorrecta interpretación de los resultados aquí declarados.

Solicitante : HEINEKEN PERÚ S.A.C.
Dirección : CALLE LOS LAURELES 131 - SANTA MARÍA DE HUACHIPA - LURIGANCHO - LIMA
Instrumento : PH METRO DIGITAL
Fabricante/Marca : HANNA INSTRUMENTS
Modelo : HI 2020-02
Número de Serie : C1002026
Procedencia : RUMANIA
Identificación : NO INDICA
Fecha de calibración : 2023-12-15
Fecha de emisión : 2023-12-19
Lugar de calibración : Laboratorio de Metrología Química
Technical Service Group S.A.C.
Calle San Lucas N° 107 - Oficina 204 Lima 21.

MÉTODO DE CALIBRACIÓN / PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN

La calibración se realiza por comparación, de acuerdo al "Procedimiento para la calibración de pHmetros digitales" QU-003 - CEM - 1ª Edición - Digital.

Sello



FORM - 80 / 1ª Versión, Marzo 2018



Responsable Técnico

Luis E. Velásquez López

Responsable del Laboratorio

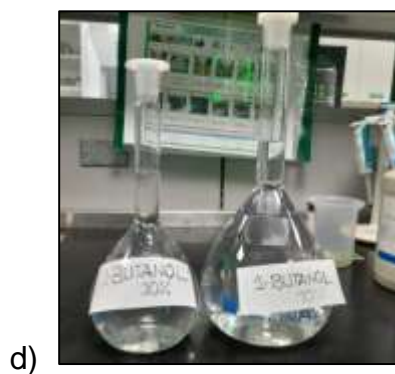
José A. Gallegos Rimachi

TECHNICAL SERVICE GROUP S.A.C.
Calle San Lucas N° 107 - Int. 203 - Lima 21
Teléfono: ++ 511-463 0951
E-mail: operaciones@technicalperu.com
www.technicalperu.com

Este documento no puede ser reproducido total o parcialmente, salvo autorización expresa de TECHNICAL SERVICE GROUP S.A.C. El presente documento carece de valor sin el sello y las firmas correspondientes.



d) Reactivos usados en la metodología.



Nota : a) Reactivo EDTA; b) Reactivo Butanol; c) Agua destilada, d) Solución de butanol al 10%, e) Reactivo de NaOH f) y g) Preparación de reactivos.

Anexo 3 Base de datos

a)

DATOS DE SPSS COLAGENO.sav [ConjuntoDatos] - IBM SPSS Statistics Editor de datos (Modo de prueba)

Archivo Editar Ver Datos Transformar Analizar Gráficos Utilidades Ampliaciones Ventana Ayuda

	Nombre	Tipo	Anchura	Decimales	Etiqueta	Valores	Perdidos	Columnas	Alineación	Medida	Rol
1	CONCENT...	Numérico	8	0	CONCENTRA...	Ninguna	Ninguna	8	Centro	Nominal	Entrada
2	RENDIME...	Numérico	8	1	RENDIMIENTO	Ninguna	Ninguna	8	Centro	Escala	Entrada

b)

DATOS DE SPSS COLAGENO.sav

	CONCENTRACION	RENDIMIENTO
1	1	9.6
2	1	9.0
3	1	9.3
4	1	9.9
5	1	9.9
6	1	9.9
7	1	10.0
8	1	9.9
9	1	10.0
10	1	10.1
11	1	10.2
12	1	10.2
13	1	10.1
14	1	10.1
15	1	10.1
16	2	12.5
17	2	12.2
18	2	12.4
19	2	12.8
20	2	12.7
21	2	12.8
22	2	12.9
23	2	13.2
24	2	13.0
25	2	13.0
26	2	13.0
27	2	13.0
28	2	13.1
29	2	13.1
30	2	13.1

Nota : a) Variables en el programa SPSS statistics ; b) Datos en el programa SPSS statistics

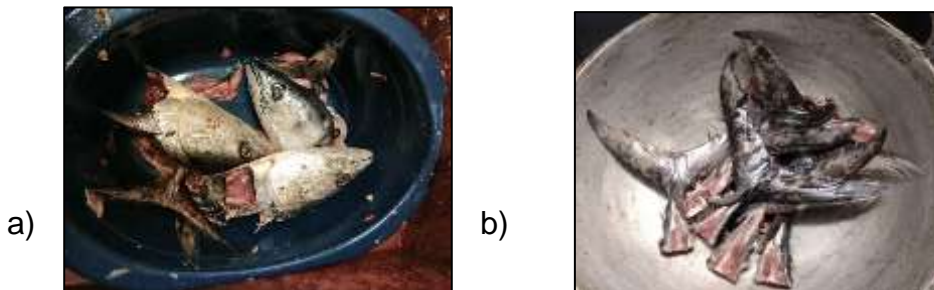
Anexo 4

Extracción de colágeno a partir de pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*)

e) Recepción de residuos del pescado bonito



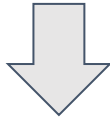
f) Segregación de residuos del pescado bonito



Nota : a) cabezas, b) colas.

g) Remoción de carne y lavado de pieles y espinazos.





h) Desinfección y blanqueamiento de pieles y espinazos.



i) Secado de espinazos y pieles posterior al lavado



j) Desengrasado de pieles con butanol 10%



Nota : Foto tomada en laboratorio de fisicoquímica de Heineken Perú.

k) Espinazos sumergidos en solución de NaOH 0,1N



l) Hidrólisis ácida



Nota : Las muestras fueron removidas en un termoagitador durante 15 minutos cada 4 horas.

m) Etapa de ebullición del colágeno



n) Posterior a la etapa de refrigeración



Nota : Las muestras fueron cortadas en cubos para una mejor evidencia de su consistencia.

o) Formación de películas resultantes del secado



Anexo 5

Análisis fisicoquímicos de las pieles y espinazos del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) y colágeno extraído.

a) Pesado de colágeno extraído para determinación de humedad



b) Pesado de colágeno extraído para determinación de cenizas



c) Resultados de % de nitrógeno de pieles y espinazos en el equipo destilador de Kjelttec



d) Resultados de % de nitrógeno en el colágeno extraído en el equipo destilador de Kjelttec



e) Análisis de determinación de aceites y grasas de colágeno extraído



Anexo 6

Análisis microbiológicos del colágeno extraído



Nota : Inoculadas con muestras de colágeno, los resultados evidencian que no hay crecimiento de coliformes ni E. Coli.

Anexo 7

Certificados de Análisis fisicoquímicos de los espinazos y pieles del pescado bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) y colágeno extraído.



Certificado de Analisis

Laboratorio de Físicoquímica
 Heineken Perú
 Av La Paz 129, Santa María de Huachipa, Lurigancho
 e-mail: laboratorio.central@heineken.com

Heineken Peru S.A.C. [LIMA]

Lima
 Peru

Producto : Espinazos de Bonito

Código de muestra : FQ-24-1099
 F. ingreso : 29/10/2024
 F. análisis : 30/10/2024

Our reference:



B2406385

Analisis Físicoquímica	Result	Unit	U95%	Specification/Tolerance
Proteínas				
Q Proteínas	17.81	%	0.0	
Gravimetría				
Q Humedad	6.75	%(m/m)	0.0	
Q Cenizas	25.8	%(m/m)	4.3	
Grasas				
Q Grasas	9.54	%(m/m)	1.3	

Estandar global : S.2343.114.01
 Hora : 12.30

Date : 30/10/2024
 Page : 1 / 1
 Version : 1

Within Specification
 Out of Specification
 Out of Tolerance

Aprobado por : Mary Moran Merino (Coordinador de Laboratorio)

Mary Elena Moran Merino
 Bióloga
 C.B.P. 10012

Este certificado sólo puede reproducirse en su totalidad. En caso de reproducción parcial, se requiere la aprobación por escrito de los Laboratorios de Garantía de Calidad. Los análisis marcados con una Q están acreditados por IRVIA. Los análisis marcados con una L están certificados por ISS. La fecha y el método de análisis se pueden obtener en el Centro de Servicio de Muestras. Explicación de U95%: La probabilidad del 95% de que un resultado X esté presente entre X +/- (U95% * X 0.01). Los datos expresados en este certificado se refieren únicamente a muestras tomadas aleatoriamente del total de muestras recibidas. Los resultados informados en este certificado se refieren a la muestra tal como se recibió. La descripción o cualquier otra referencia relativa a la muestra son declaradas por el cliente. * El laboratorio declina cualquier responsabilidad por la información proporcionada por el cliente informado en este certificado que pueda influir en la validez de los resultados. La incertidumbre como rango de confianza del 95% (U95%) no se ha ajustado en los resultados de la prueba y, por lo tanto, no se ha evaluado en relación con las especificaciones.





Certificado de Analisis

Laboratorio de Fisicoquímica
Heineken Perú
Av La Paz 129, Santa María de Huachipa, Lurigancho
e-mail: laboratorio.central@heineken.com

Heineken Peru S.A.C. [LIMA]

Lima
Peru

Producto : Piel de Bonito

Código de muestra : FQ-24-1098
F. ingreso : 29/10/2024
F. análisis : 30/10/2024

Our reference:



B2406385

Analisis Fisicoquímica	Result	Unit	U95%	Specification/Tolerance
Proteínas				
Q Proteínas	39.19	%	0.6	
Gravimetría				
Q Humedad	63.3	%(m/m)	3.0	
Q Cenizas	0.75	%(m/m)	4.3	
Grasas				
Q Grasas	3.19	%(m/m)	1.5	

Estandar global : S.2343.114.01
Hora 12.25

Date : 30/10/2024
Page : 1/1
Version : 1

Within Specification

Out of Specification

Out of Tolerance

Aprobado por : Mary Moran Merino (Coordinador de Laboratorio)

Mary Moran Merino
Bióloga
C.B.P. 15012

Este certificado sólo puede reproducirse en su totalidad. En caso de reproducción parcial, se requiere la aprobación por escrito de los Laboratorios de Garantía de Calidad. Los análisis marcados con una Q están acreditados por RvA. Los análisis marcados con una L están certificados por LIS. La fecha y el método de análisis se pueden obtener en el Centro de Servicio de Muestras Explicación de U95%. La probabilidad del 95% de que un resultado X esté presente entre X +/- (U95% * 0,01) Los datos expresados en este certificado se refieren únicamente a muestras tomadas aleatoriamente del total de muestras recibidas. Los resultados informados en este certificado se refieren a la muestra tal como se recibió. La descripción o cualquier otra referencia relativa a la muestra son dadas por el cliente. * El laboratorio declara cualquier responsabilidad por la información proporcionada por el cliente informado en este certificado que pueda influir en la validez de los resultados. La incertidumbre como rango de confianza del 95% (U95%) no se ha ajustado en los resultados de la prueba y, por lo tanto, no se ha evaluado en relación con las especificaciones.





Certificado de Analisis

Laboratorio de Fisicoquímica
Heineken Perú
Av La Paz 129, Santa Maria de Huachipa, Lurigancho
e-mail: laboratorio.central@heineken.com

Heineken Peru S.A.C. [LIMA]

Lima
Peru

Producto : Colageno

Codigo de muestra : FQ-24-1100
F. ingreso : 3/11/2024
F. análisis : 3/11/2024

Our reference:



B2406385

Analisis Fisicoquímica	Result	Unit	U95%	Specification/Tolerance
Proteinas				
Q Proteinas	37.06	%	0.6	
Gravimetria				
Q Humedad	4.9	%(m/m)	3.0	
Q Cenizas	3.2	%(m/m)	4.1	
Grasas				
Q Grasas	1	%(m/m)	3.3	

Estandar global : S.2343.114.01
: Hora 12.30

Date : 30/10/2024
Page : 1 / 1
Version : 1

Within Specification

Out of Specification

Out of Tolerance

Aprobado por : Mary Moran Merino (Coordinador de Laboratorio)


Mary Moran Merino
Bolsopa
C.B.P. 16012

Este certificado sólo puede reproducirse en su totalidad. En caso de reproducción parcial, se requiere la aprobación por escrito de los Laboratorios de Garantía de Calidad. Los análisis marcados con una Q están acreditados por RVA. Los análisis marcados con una L están certificados por LSS.
La fecha y el método de análisis se pueden obtener en el Centro de Servicio de Muestras Explicación de U95%: La probabilidad del 95% de que un resultado X esté presente entre $X \pm (U95\% \times \sigma)$. Los datos expresados en este certificado se refieren únicamente a muestras tomadas aleatoriamente del total de muestras recibidas. Los resultados informados en este certificado se refieren a la muestra tal como se recibió. La descripción o cualquier otra referencia relativa a la muestra son declaradas por el cliente. El laboratorio declina cualquier responsabilidad por la información proporcionada por el cliente informado en este certificado que puede influir en la validez de los resultados. La incertidumbre como rango de confianza del 95% (U95%) no se ha ajustado en los resultados de la prueba y, por lo tanto, no se ha evaluado en relación con las especificaciones.



Anexo 8

Certificado de Análisis microbiológicos de Colágeno extraído.



Certificado de Analisis

Laboratorio de Fisicoquímica
Heineken Perú
Av La Paz 129, Santa Maria de Huachipa, Lurigancho
e-mail: laboratorio.central@heineken.com

Heineken Peru S.A.C. [LIMA]

Lima
Peru

Producto : Colágeno

Codigo de muestra : MB-24-3679
F. ingreso : 29/10/2024
F. análisis : 30/10/2024

Our reference:



82406385

Analisis Microbiologicos	Result	Unit	Specification/Tolerance
Coliformes	<10	UFC	<100
Método : AFNOR 3M 01/7-03/99	10/12/2024		Within Specification
Norma : RM 591-2008 MINSA			Out of Specification
Hora 15:35	Page : 1/1		Out of Tolerance
	Version : 1		

Aprobado por : Mary Moran Merino (Coordinador de Laboratorio)

Mary Moran Merino
Biotecnología
C.B.P. 16812

Este certificado sólo puede reproducirse en su totalidad. En caso de reproducción parcial, se requiere la aprobación por escrito de los Laboratorios de Gerencia de Calidad. Los análisis marcados con una Q están acreditados por RvA. Los análisis marcados con una L están certificados por LIS. La fecha y el método de análisis se pueden obtener en el Centro de Servicio de Muestras Explicación de U95%. La probabilidad del 95% de que un resultado X esté presente entre $X \pm (U95\% \times \sigma(0,01))$. Los datos expresados en este certificado se refieren únicamente a muestras tomadas aleatoriamente del total de muestras recibidas. Los resultados informados en este certificado se refieren a la muestra tal como se recibió. La descripción o cualquier otra referencia relativa a la muestra son declaradas por el cliente. El laboratorio declina cualquier responsabilidad por la información proporcionada por el cliente informado en este certificado que puede influir en la validez de los resultados. La incertidumbre como rango de confianza del 95% (U95%) no se ha ajustado en los resultados de la prueba y, por lo tanto, no se ha evaluado en relación con las especificaciones.

