

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**OBTENCIÓN DE COLÁGENO HIDROLIZADO A PARTIR DE HUESOS DE LLAMA
DESECHADOS EN EL MATADERO MUNICIPAL DE YUNCHARA, DEPARTAMENTO DE
TARIJA**



Por: María Rene Ruiz Aldana

**Modalidad de graduación Proyecto de Grado: Investigación Aplicada presentado a consideración de la
“UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO”, como requisito para optar el grado académico de
Licenciatura en Ingeniería Química.**

Octubre 2018

TARIJA-BOLIVIA

CONTENIDO	
ANTECEDENTES	1
Objetivo General	4
Objetivos Específicos	4
JUSTIFICACIÓN	5
Aspectos del mercado sobre el producto a obtener	6
Aspecto Tecnológico	6
Aspecto Económico – Social	6
Aspecto Ambiental	6
Mercado (Internacional y Nacional) del colágeno hidrolizado	7
1.MARCO TEÓRICO	8
1.1.CAMÉLIDOS	8
1.1.1 Población de Camélidos	8
1.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MATERIA PRIMA: HUESOS	12
1.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS HUESOS	12
1.3.1 Constituyentes Orgánicos	13
1.3.2 Constituyentes Inorgánicos:	14
1.4 ESTRUCTURA DE LOS HUESOS	17
1.5 TIPOS DE HUESOS	17
1.6 PRINCIPALES FUNCIONES DE LOS HUESOS	19
1.7 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE LOS CAMÉLIDOS	20
1.8 IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO: COLÁGENO	23

1.8.1. Proteínas.....	23
1.8.1.1 Propiedades Características de las Proteínas.....	24
1.8.2 Aminoácidos.....	25
1.8.3 Características del colágeno.....	27
1.8.4 Estructura química del colágeno.....	28
1.8.5 Característica del colágeno hidrolizado.....	31
1.8.6 Tipos de Colágeno Hidrolizado.....	32
1.8.6.1 Colágenos Mayores.....	32
1.8.7 Propiedades y Ventajas del Colágeno Hidrolizado.....	34
1.8.8 Aplicaciones.....	36
1.8.9 Diferencias Entre el Colágeno Nativo y Colágeno Hidrolizado.....	36
1.8.10 Diferencias con la Gelatina.....	38
1.8.11 Componentes Principales del Colágeno Hidrolizado.....	39
1.9 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE COLÁGENO HIDROLIZADO.....	44
1.9.1 Hidrólisis en el Colágeno.....	44
1.10 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACION CUALITATIVA DE COLAGENO HIDROLIZADO.....	45
1.10.1 Pruebas Cualitativas para la determinación de Colágeno.....	46
CAPITULO II	
2 DESCRIPCION DEL MÉTODO DE INVESTIGACION.....	48
2.1 PROCESO DE ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA.....	48
<i>Recolección de la pre- materia prima</i>	48
<i>Transporte</i>	49
<i>Selección pre- materia prima</i>	49
<i>Selección del tipo de descarte</i>	51
2.2 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	54
2.3 CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO TERMINADO.....	55
2.4 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	56

2.4.1 Variables	56
2.4.2 Niveles	57
2.4.3 Número de combinaciones	57
2.4.4 Variable Respuesta	59
2.5 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE OBTENCION DE COLÁGENO HIDROLIZADO	59
2.5.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	62
<i>Recolección de la materia prima</i>	62
<i>Descarne y lavado</i>	62
<i>Secado y pesado</i>	63
<i>Pre-molienda y Molienda</i>	64
<i>Tamizado</i>	65
<i>Desengrase</i>	66
<i>Extracción del colágeno</i>	71
2.5.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN	73
2.5.2.1 Hidrolisis Básica	73
2.5.2.2 Hidrolisis Acida	74
2.6 DISEÑO DEL MOLINO DE MARTILLOS A ESCALA INDUSTRIAL	79
2.6.1 Cálculo y Diseño de las partes	80
Capacidad de la molienda	80
Velocidad Rotacional	80
Velocidad Tangencial del extremo del martillo	81
Radio de giro	82
Cálculo de la potencia necesaria	84
<i>Potencia de triturado</i>	84
<i>Torque de triturado</i>	84
<i>Fuerza de triturado</i>	84
<i>Fuerza de triturado para una partícula</i>	85
Masa de la partícula	86
Tiempo de choque	86

Número de partículas a triturar por vuelta	87
2.7 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	88
2.7.1. Equipos y Materiales	88
2.8 METODOLOGIA UTILIZADA PARA LLEGAR AL RESULTADO ESPERADO DE INVESTIGACION.	90
2.9 BALANCE DE MATERIA Y ENERGÍA	93
2.9.1 Diagrama de Flujo del proceso de Extracción	94
2.9.2 Balance de materia	99
2.9.3 Balance de Energía	118
CAPITULO III	
3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA	119
3.2 ANÁLISIS DEL PRODUCTO FINAL	121
3.3 ANALISIS ESTADISTICO DEL DISEÑO FACTORIAL	121
3.3.1. Análisis estadístico del diseño factorial en la determinación de Colágeno	121
3.3.2 Análisis de regresión	124
3.4 EVALUACIÓN SENSORIAL DEL COLÁGENO	126
3.5 RENDIMIENTO FINAL DEL PRODUCTO	130
3.6 PRUEBAS CUALITATIVAS	131
CAPITULO IV	
4.1 CONCLUSIONES	132
4.2 RECOMENDACIONES	133

INDICE DE TABLAS

1 POBLACIÓN DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS EN LA REGIÓN ANDINA.....	9
2 POBLACIÓN ESTIMADA DE CAMÉLIDOS EN BOLIVIA.....	9
3 CONSUMO DE CARNE DE LLAMA EN BOLIVIA.....	10
4 NÚMERO DE CABEZAS DE LLAMAS EN EL MUNICIPIO DE YUNCHARÁ.....	11
5 COMPOSICIÓN DE LOS HUESOS.....	16
6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS HUESOS.....	16
7 PRINCIPALES INDICADORES ÓSEOS DIFERENCIALES DEL ESQUELETO AXIL.....	21
8 AMINOÁCIDOS EN COLÁGENO TIPO I.....	30
9 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL COLÁGENO HIDROLIZADO.....	32
10 TIPOS DE COLAGENO.....	34
11 DATOS QUÍMICOS, FISICOQUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA GLICINA.....	41
12 DATOS QUÍMICOS, FISICOQUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA PROLINA.....	42
13 DATOS QUÍMICOS, FISICOQUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA HIDROXIPROLINA.....	44
14 SELECCIÓN DEL TIPO DE HUESO.....	50
15 SELECCIÓN DE DESCARNE.....	55
16 NIVELES DE LAS VARIABLES.....	58
17 CODIFICACIÓN DE LAS VARIABLES.....	58
18 COMBINACION DE LAS VARIABLES PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN.....	59
19 SELECCIÓN DEL TIPO DE SOLVENTE.....	68
20 PARÁMETROS SEGÚN FABRICANTES.....	80
21 DATOS DEL DISEÑO DE UN MOLINO DE MARTILLOS.....	83
22 EQUIPOS USADOS EN EL PROYECTO.....	89
23 MATERIAL USADO EN EL PROYECTO.....	90
24 REACTIVOS USADOS EN EL ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA.....	91
25 TEST PARA ELEGIR EL PRODUCTO FINAL DE COLAGENO HIDROLIZADO.....	94
26 DATOS DE PROCESO DE OBTENCIÓN DE COLÁGENO.....	95
27 CORRIENTES DEL PROCESO.....	96
28 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS.....	123

29 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	123
30 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	124
31 COMBINACIÓN DE VARIABLES A 2 NIVELES	125
32 ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA	126
33 VARIABLES INTRODUCIDAS/ELIMINADAS	127
34 RESUMEN DEL MODELO_b	128
35 ANOVA_b	128
36 COEFICIENTES_a	129
37 ESCALA HEDÓNICA PARA EVALUACIÓN SENSORIAL DE ATRIBUTOS DEL COLÁGENO	130
38 RESULTADO DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA MUESTRA NO1	131
39 RESULTADO DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA MUESTRA NO2	132
40 RESULTADO DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA MUESTRA NO3	133
41 RESULTADO DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA MUESTRA NO4	134
42 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS CUALITATIVAS	136

V°B°

M.Sc. Ing. Ernesto Álvarez Gozalves

DECANO

M.Sc. Lic. Elizabeth Castro Figueroa

VIDECANA

APROBADA POR:

TRIBUNAL:

Ing. Juan Pablo Herbas Barrancos

Ing. Alberto Sossa Morales

Ing. Esperanza Flor Coronel Sandoval

ADVERTENCIA

El tribunal calificador del presente trabajo, no se solidariza con la forma, términos, modos y expresiones vertidas en el mismo, siendo éstas responsabilidad del autor.

DEDICATORIA

A la persona más grandiosa del mundo; MI MADRE quien, a pesar del esfuerzo y cansancio reflejado en su rostro por el trabajo, siempre esta con una sonrisa en su reflejándome fuerza y ganas de salir adelante.

A mis abuelos a quienes veo como digno ejemplo de trabajo, valor y empeño.

A mis docentes, por impartirme sus conocimientos con paciencia y mucho esmero

A mis tribunales por su colaboración y consejos brindados para la conclusión de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A mis abuelos por su constante esfuerzo y cariño, hoy puedo decir que valió la pena. Gracias Papitos.

A todos mis amigos, compañeros y hermanos que hice durante el transcurso de la Carrera gracias por compartir momentos inolvidables, gracias por su ayuda y colaboración en este trabajo.

A mi compañero en esta etapa de mi vida Carlos Koría, gracias por el aguante y sobre todo la paciencia.

RESUMEN

El presente estudio tiene como finalidad la obtención de colágeno hidrolizado a partir de huesos de llama.

El colágeno hidrolizado es un producto que se compone de cadenas cortas de aminoácidos (péptidos), lo que incrementa su biodisponibilidad. El colágeno hidrolizado se disuelve fácilmente en líquidos fríos sin dilatarse ni calentarse.

Al igual que la gelatina, el colágeno hidrolizado se forma por un proceso de hidrólisis a partir de colágeno de tipo 1, el mismo colágeno que forma los huesos y la piel de los seres humanos. Es un producto natural que contiene más de un 97% de proteína (basado en su peso seco, el colágeno hidrolizado contiene 18 aminoácidos, incluidos 8 de los 9 aminoácidos esenciales).

Posee propiedades muy bondadosas sobre el funcionamiento de diversas partes del cuerpo humano.

El proceso de extracción se realiza mediante una reacción ácido-base en la que se utiliza ácidos y álcalis en baja concentración y posterior ajuste de pH mediante diversas etapas de lavado, posteriormente se realizan los respectivos análisis de identificación.

Los factores de variación son; tiempo (8 y 12 horas), y temperatura (10 °C y 25 °C)

El análisis estadístico se realiza mediante el programa SPSS 18,0 el cual muestra que ambas variables son significativas.

Para la extracción de lípidos se utilizan técnicas de extracción por el método soxhlet, con el objetivo de tener menor pérdida de hueso y de la misma manera recuperar el solvente utilizado.

Para la identificación de colágeno se realiza pruebas cualitativas como la prueba de biuret y prueba de ninhidrina, utilizando NaOH al 20%, sulfato cúprico y ninhidrina al 0.3%

Para evaluar el rendimiento se determina la cantidad de colágeno por cada gramo de hueso de llama utilizado en el proceso de extracción.

Como resultados se obtiene rendimientos cuyo promedio es de 68%, durante un tiempo de 12 horas de agitación y a una temperatura de 25 °C.

El análisis fisicoquímico del colágeno contiene: 0,71 % de cenizas, 91,45 % de proteínas totales, 6,83% de humedad, 0,22% de grasas totales y 4,76 de calcio mg/100gr.

ANTECEDENTES

En el Sur América la crianza de alpacas y llamas se constituye en una de las pocas actividades ganaderas que se pueden llevar a cabo en terrenos geográficos ubicados en las grandes alturas.

La denominación de Camélidos Sudamericanos, familia Camelidae, tribu Lamini, géneros Lama y Vicuña, engloba a dos especies domésticas; la alpaca y la llama, y dos silvestres: la vicuña y el guanaco.

El cruce más común entre los camélidos sudamericanos es entre la llama y la alpaca. Este híbrido, conocido como wari, está subdividido por los pastores tradicionales entre llamawari (semejante a llama) y pacowari (semejante a alpaca), ambos tipos reúnen características fenotípicas no deseables (Fernández-Baca, 1971).

Según un proyecto de la FAO. “Situación actual de los camélidos Sudamericanos en Bolivia”. Actualmente, existen en la Región Andina aproximadamente 3764000 llamas, 3489000 alpacas, 248500 vicuñas y 797500 guanacos. El país de mayor importancia en la producción camélida es el Perú que posee el 83% de alpacas, 30% de llamas y 57% de vicuñas, por otra parte, Bolivia posee 64% de llamas, 12% de alpacas y el 18% de vicuñas. Tabla I-1

Los Camélidos Sudamericanos son animales de gran importancia económica y científica, fisiológicamente representan un modelo de adaptación a las condiciones ambientales existentes en las grandes alturas, que constituyen su ambiente natural.

Son animales considerados altamente ecológicos por su comportamiento y la forma de alimentarse. Su consumo alimenticio lo realizan por medio de corte porque su mandíbula termina en forma de cuña la cual les permite cortar los diferentes pastos y forrajes a diferencia de otras especies que realizan el arrancamiento de la pradera, lo que provoca una constante pérdida de la pradera nativa y su cobertura facilitando por esta razón la erosión eólica e hídrica.

Se considera también ecológicos porque, en su crianza no se utilizan promotores de crecimiento, hormonas, feromonas u otros productos veterinarios para aumentar su desarrollo corporal (PROMETA, 2008).

En Bolivia, la crianza de camélidos es muy extensa sobre todo en la parte altiplánica de los distintos departamentos que conforman el País.

En el país los departamentos de La Paz, Oruro, Potosí y Cochabamba son los mayores productores de camélidos. (Ver Tabla I-2)

El consumo de carne y los derivados de esta como ser los embutidos viene incrementándose. (Ver Tabla I-3)

La organización de Protección del Medio Ambiente Tarija – (PROMETA) tuvo la iniciativa de incursionar en la ganadería de camélidos en la zona alta del departamento de Tarija, más propiamente en el municipio de Yunchará, de la provincia Avilés.

El proyecto se inicia en el año 2001, a través de un estudio de campo con un programa inicial de 15 llamas adquiridas de Oruro y Jujuy-Argentina. La aceptación de las familias campesinas no lleva mucho tiempo y cobra importancia tras la asistencia técnica y capacitación sobre las ventajas económicas, alimenticias y medioambientales que conlleva la cría de camélidos de alta calidad genética. Posteriormente gracias a la aceptación y el gran éxito que se tuvo en Yunchará es que se ha decidido ampliar la cobertura hacia el municipio de El Puente y al municipio de Villazón en este último desde el año 2010 donde también se tuvo un gran impacto gracias a la respuesta de los mismos productores, actualmente se llegó a un repoblamiento de 14 mil llamas aproximadamente. (Ver Tabla I-4)

“El proyecto se inició con el faenado de una a dos llamas y fue subiendo hasta ocho llamas semanales. La carne y el charque de llama se comercializan en el Mercado Campesino de la ciudad de Tarija, donde se tiene un puesto específico para la venta de estos productos. Se faenan un total de ocho animales, seis para carne y dos para charque. Para carne de Llama se seleccionan animales que tengan de dos a tres años

de edad, por la calidad de carne que se quiere ofrecer al mercado. Los animales de mayor edad, de tres a cinco años, son destinados para hacer el charque de Llama”, (PROMETA, 2008)

Considerando el concepto de maximizar la reutilización de los residuos sólidos procedentes de la operación de deshueso, que por su contenido proteico podría ser utilizado para la extracción de colágeno que es una de las proteínas fibrosas más abundantes y constituye un tercio de las proteínas de los vertebrados. Se considera necesario el desarrollo de tecnologías de tratamiento de este tipo de residuos para la valoración de los mismos.

Al ser el charque de llama un producto nuevo en el mercado Tarijeño, aún no existe muchos residuos desechados, pero en un futuro con el aumento de producción, los desechos al ser eliminados en el entorno y sin ningún tratamiento previo, pueden llegar a generar un foco de contaminación. Con un proceso de producción estos desechos pueden llegar a adquirir un valor agregado.

La globalización y las tendencias actuales han llevado a que los países, las organizaciones y las instituciones estén constantemente actualizándose y evaluándose con el fin de estar a la vanguardia. Es así como la innovación va cobrando gran importancia, pues es un factor determinante para la productividad, el crecimiento económico y la competitividad (Wang, Lu y Chen, 2008). Hoy en día se habla de innovación en todos los campos y no solo es prioridad a nivel de país sino también a nivel de las organizaciones y las instituciones que buscan avanzar y ser competitivos en mercados exigentes y de gran conocimiento. Gracias a estas necesidades, dichas entidades enmarcan sus proyectos en el contexto de la innovación para ser coherentes con la búsqueda de competitividad y crecimiento económico.

OBJETIVOS

Se plantean los siguientes objetivos para el presente estudio:

Objetivo General

- Obtención de colágeno hidrolizado a partir de los huesos de Llama.

Objetivos Específicos

- Determinar los parámetros físico-químicos (humedad, cenizas, grasa, proteínas) para huesos de Llama.
- Seleccionar el proceso tecnológico para la obtención de colágeno hidrolizado de huesos de Llama.
- Formulación de la fase experimental para el proceso de obtención de colágeno hidrolizado a partir de huesos de Llama.
- Determinación de los parámetros físico-químicos (humedad, cenizas, grasa, proteínas) del producto obtenido: colágeno hidrolizado a partir de huesos de Llama.
- Realización de un análisis organoléptico del producto obtenido.
- Realización de escalamiento de un molino de martillos en la etapa de molienda de huesos de Llama.

JUSTIFICACIÓN

A partir del año 2001 gracias a diferentes capacitaciones dadas a los comunarios de la parte altiplánica, propiamente en el municipio de Yunchará de la provincia Avilés del departamento de Tarija, es que se introduce la repoblación de Camélidos en esta zona, conociendo las propiedades y beneficios que la carne contiene y teniendo conocimiento sobre el faeneo y la producción de charque, es que el municipio empieza a la tarea de la crianza de llama para la comercialización de carne y charque, estos productos son traídos hasta la provincia Cercado dos veces por semana, no obstante en la ciudad de Tarija también se empezó a incursionar con esta carne para la elaboración de embutidos como ser los chorizos.

La elaboración de estos productos (charque, embutidos) genera desechos, como huesos entre otras cosas, que no tienen ningún tipo de uso, ya que no saben la potencialidad de estos.

Debido a que la carne se deteriora, porque es un producto altamente perecedero, se ha visto la necesidad de ampliar la vida útil del mismo, produciendo así el denominado charque de llama, es un producto compuesto de carne deshidratada y envasada para su consumo. En la producción del charque de llama existe una gran cantidad de desecho que son los huesos de estos animales, al no tener conocimiento de los usos que se puede dar a estos desechos, es que estos llegan a quemarlos sin darles ningún uso.

Esta justificación se sustenta en cuatro aspectos fundamentales:

- Aspecto del mercado
- Aspecto Tecnológico
- Aspecto Económico- Social
- Aspecto Ambiental

Aspectos del mercado sobre el producto a obtener

El colágeno es un producto que tiene diferentes funciones para distintos sectores productivos, pero estos son importados del exterior.

La información recopilada para la obtención de colágeno hidrolizado fue sacada de otras experiencias de obtención a escala laboratorio que se llevó a cabo en distintos países.

Aspecto Tecnológico

El proceso para elaborar el producto y la tecnología a aplicar en el desarrollo de la obtención se encuentran explicados en el Marco Teórico del mismo.

Los equipos utilizados para la producción de colágeno hidrolizado a escala laboratorio son accesibles, y se encuentran disponibles en las instalaciones del campus universitario, previo permiso y autorización para utilizar los mismos.

Aspecto Económico – Social

Bolivia es el segundo productor de camélidos en Sudamérica, es por esto que la cantidad de materia prima con la se cuenta es apreciable. Los productores que se dedican al faeneo y a la producción de charque de Llama, no tienen el conocimiento de cómo dar un valor agregado a los huesos desechados.

La obtención de colágeno puede brindarse como una herramienta fundamental para concebir una cadena productiva para los involucrados.

No existe, al momento, estudios de obtención de colágeno a partir de los huesos de la llama, es por eso que el siguiente trabajo podría ser estudiado para una futura industrialización a mayor escala.

Aspecto Ambiental

Se pretende dar un valor agregado al hueso de llama y a su vez disminuir el impacto ambiental que este material residual causa, debido a la mala disposición de los mismos.

ANTECEDENTES SOBRE LA OBTENCION DE COLAGENO HIDROLIZADO A NIVEL INTERNACIONAL

El colágeno es una proteína usada para la fabricación de productos en diferentes sectores de la industria, como ser en la industria farmacéutica, industria alimenticia, etc.

Para la obtención de colágeno hidrolizado en distintos países, la materia prima inicialmente utilizada es de origen ovino, porcino y también residuos de diferentes especies de animales acuáticos, debido a que cuentan con la materia prima, los equipos correspondientes y un óptimo proceso de obtención.

Mercado (Internacional y Nacional) del colágeno hidrolizado

En Bolivia, actualmente la producción de colágeno, es realizada por una sola industria, la cual obtiene el producto a partir de residuos que desecha el proceso de curtido de pieles, (ovino y camélido), este tipo de colágeno no puede ser usado para la fabricación de productos comestibles, debido a la cantidad de agentes químicos que contiene.

Todo el consumo de los productos que están hechos a base de colágeno, en los diferentes sectores de la industria son importados, además los precios por los que son adquiridos son elevados, estos oscilan entre 200 a 800 Bs, para la compra de productos de belleza y alimentos proteicos para el consumo de los deportistas y siendo aún mucho más elevados para el sector médico, con las prótesis de colágeno.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

Esta investigación se fundamenta en los siguientes trabajos científicos como base, a fin de conocer algunos procesos para la obtención y parámetros para su posterior comparación con los resultados que se obtenga.

“EXTRACCION DE COLAGENO EN MEDIO ACIDO- BASICO A PARTIR DE CASCOS DE BOVINO”. Tesis realizada por tres estudiantes de la carrera de ingeniería de alimentos, universidad “La Salle” Colombia, en el año 2012. Se determinó cuál de las dos concentraciones usadas de hidróxido de sodio (NaOH) adecuaba el material para poder ser reducido por medio del licuado.

“EXTRACCION DE COLAGENO A PARTIR DE CRESTAS DE POLLO”. Investigación realizada por Christian Daivid Castro Vargas de la universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias Básicas, en la ciudad de Bucaramanga en el año 2012. Se evaluó el efecto de la digestión con pepsina en diferentes tiempos y a diferentes temperaturas.

En la obtención de colágeno hidrolizado es necesario acondicionar la materia prima para un adecuado proceso, lo cual implica tener un conocimiento cabal de la composición química y mineralógica de las materias primas e insumos que conforman este proceso.

1.1. CAMÉLIDOS

1.1.1 Población de Camélidos

América del Sur es la región con mayor población de camélidos en el mundo. Bolivia en relación con el resto del mundo posee la mayor población de llamas

TABLA I-1***1 POBLACIÓN DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS EN LA REGIÓN ANDINA***

PAIS	ESPECIE			
	LLAMA	ALPACA	VICUÑA	GUANACO
PERU	1120285	3026087	141319	1600
BOLIVIA	2622310	456794	45162	1000
CHILE	155000	1000	33414	771000
ARGENTINA	79294	45224	27921	23850
ECUADOR	10000	200	712	

Fuente: Delgado, 2003

Los camélidos en Bolivia están distribuidos en la región del altiplano. Como se muestra en la Tabla I-2. Los departamentos con mayor población de camélidos son: La Paz, Oruro, Potosí y Cochabamba.

TABLA I-2***2 POBLACIÓN ESTIMADA DE CAMÉLIDOS EN BOLIVIA***

DEPARTAMENTO	Llamas (Cabezas)	Alpacas (Cabezas)
LA PAZ	340900	232.466
ORURO	1311155	209675
POTOSI	865363	13674
COCHABAMBA	1048092	969
TARIJA	15446	
TOTAL	2715593	456784

Fuente: Estudio, Identificación, Mapeo y Análisis competitivo de la Cadena Productora de Camélidos, 2005.

El consumo de carne de llama en las ciudades de Bolivia presenta los siguientes datos aproximados:

TABLA I-3***3 CONSUMO DE CARNE DE LLAMA EN BOLIVIA***

PORCENTAJE DE CONSUMIDORES DE CARNE DE LLAMA	DESTINO DEL CONSUMO FINAL
80	Carne y Charque de Llama
20	Medallones, Hamburguesas y Chorizos

Fuente: Seminario Taller Estrategia de desarrollo Industrial sostenible de Potosí,
año 2005

TABLA I-4

4 NÚMERO DE CABEZAS DE LLAMAS EN EL MUNICIPIO DE YUNCHARÁ

MUNICIPIO DE YUNCHARA	
COMUNIDADES	LLAMAS
Arenales	197
Abra La Cruz	78
Buena Vista	85
Carapari	74
Ciénega frontera	185
Copacabana	1844
Chorcuya Aviles	2123
Churquis	54
Hornuyo	152
Huayllajara	259
La Falda	96
Muñajoj	423
Ñoquera	39
Papachacra	1323
Pasajes	625
Pujzara	1613
Pulario	95
Quebrada Honda	124
Quebradillas	150
Quiscacancha	523
Ramadas	79
Rodeo	55
Rosario	485
Rupaska	323
S. A. de la Torre	154
San Luis de Palqui	70
Vicuñayoj	329
Vizcarra	1425
Yunchara	58
Yuticancha	612
Zurita	42
TOTAL	13.694

Fuente: PROMETA, 2008

1.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MATERIA PRIMA: HUESOS

Los huesos son estructuras rígidas mineralizadas (osificadas) que se conectan entre sí por medio de los ligamentos y con los músculos a través de los tendones. En algunos huesos, los cartílagos intervienen complementando su estructura. Los huesos no son todos iguales, ya que hay diferencias de tamaño, consistencia y función. (Anatomía y Fisiología del sistema óseo)

Los huesos de distintos animales, no son muy diferentes unos de otros en su composición, por lo tanto, tampoco son diferentes en la composición con los huesos en los seres humanos.

La gran mayoría de los organismos animales posee una estructura sólida que sirve de sostén y protección para el cuerpo denominada esqueleto. Según sea la posición que ocupe el esqueleto en los animales respecto de los tejidos blandos, esa estructura rígida y compacta se clasifica en exoesqueleto y endoesqueleto. Cuando el armazón se encuentra por fuera de los órganos blandos, como ocurre con los artrópodos y algunos moluscos, recibe el nombre de exoesqueleto. Si está dentro del organismo cubierto por los tejidos blandos, como sucede en los vertebrados, se denomina endoesqueleto.

El sistema óseo de los animales superiores está formado por el esqueleto (endoesqueleto), que es un conjunto de huesos cuya función es permitir la locomoción, el sostén de tejidos musculares y la protección de órganos blandos, entre otros. Conjuntamente con los sistemas articular, muscular y nervioso, el sistema óseo conforma el sistema locomotor.

1.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS HUESOS

Los huesos son estructuras resistentes de color blanco amarillento compuestos de sustancias minerales y orgánicas.

El hueso es un tejido heterogéneo, altamente anisótropo de tal manera que la matriz intercelular muestra una estructura y propiedades diferentes en los diferentes tipos de hueso. (Curso de Fisiología. Sistema Óseo, 2008).

Las fibras de colágeno y otras proteínas presentes en la matriz aportan flexibilidad, resistencia a la tensión. Si faltan las fibras de colágeno o éstas son defectuosas se producen enfermedades como la osteogénesis imperfecta, también conocida como huesos de cristal. Por contrario, si se eliminan las sales minerales del hueso por disolución en un ácido débil como el vinagre, resulta una estructura flexible, esponjosa y gomosa.

El hueso no es completamente macizo, sino que muestra muchos espacios entre sus componentes duros. Por estos espacios discurren los vasos sanguíneos que nutren las células óseas y reducen el peso del hueso. Según el tamaño y naturaleza de estos espacios, los huesos se denominan compactos o esponjosos. (Curso de Fisiología. Sistema Óseo)

1.3.1 Constituyentes Orgánicos

Los huesos contienen alrededor de un 30% de materia orgánica compuesta por tejido conectivo de fibras colágenas (osteína).

La osteína es la sustancia orgánica y constituye más de 1/3 del material que forma los huesos y ella confiere a los huesos elasticidad y resistencia.

El principal componente de la matriz ósea es el colágeno tipo I que supone entre el 90 y 95% de la matriz orgánica. Las fibrillas de colágeno son similares a las que se presentan en otros tejidos y están distribuidas aleatoriamente formando un entramado.

FIGURA 1-1
TOTAL PARTE SOLIDA DE LOS HUESOS



Fuente: Elaboración Propia

1.3.2 Constituyentes Inorgánicos:

Los huesos poseen gran cantidad de fosfato de calcio. Se distinguen varias clases de hueso, siendo muy importantes los huesos frescos. (Marchad 1999)

La materia inorgánica representa un 45% y está formada por 85% de fosfato de calcio, 9% de carbonato de calcio, 2% de fosfato de magnesio y 4% de fluoruro de calcio. El restante 25% es agua. Del total de la parte sólida de los huesos, el 45% es materia inorgánica y el 30% es materia orgánica.

FIGURA 1-2
COMPOSICIÓN DE LAS SALES MINERALES QUE CONTIENE EL
HUESO



Fuente: Elaboración Propia

Todas estas sales se encuentran depositadas en una retícula formada por las fibras de colágeno. El proceso por el cual estas sales se depositan y cristalizan en la retícula se denomina calcificación. Aunque la dureza del hueso se debe a sus componentes minerales, sin la existencia de la retícula de colágeno, el hueso sería frágil.

Los minerales de los huesos no son componentes inertes ni permanecen fijos, sino que son constantemente intercambiados y reemplazados junto con los componentes orgánicos en un proceso que se conoce como remodelación ósea.

Su formación y mantenimiento está regulada por las hormonas y los alimentos ingeridos, que aportan vitaminas de vital importancia para su correcto funcionamiento. (Karla H. Monografía, 2007).

TABLA I-5
5 COMPOSICIÓN DE LOS HUESOS

COMPONENTES	%
Cartílago insoluble e HCl (oseína)	27,23
Cartílago soluble	5,02
Vasos sanguíneos, tejidos, etc.	1,01
Fosfato tricalcico	52,26
Fluoruro de Calcio	1,00
Carbonato de Calcio	10,21
Fosfato de Magnesio	1,05
Sales Sólidas	1,05

Fuente: Marchand

TABLA I-6
6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS HUESOS

Materia Orgánica 30%	Proteína de naturaleza colágena (Osteína)
Materia Inorgánica 45%	Fosfato de calcio Carbonato de Calcio Fluoruro de Calcio Fosfato de Magnesio
Agua 25%	

Fuente: Anatomía y Fisiología del sistema óseo

Los huesos dan consistencia y resistencia a los golpes y presiones, aunque también tienen cierta elasticidad que les permite proteger órganos vitales como el cerebro, el corazón y la médula espinal, entre otros.

Algunas vitaminas son muy importantes para la formación del hueso. La vitamina A es necesaria para la maduración, regeneración y modelado de las estructuras óseas, mientras que la vitamina D es importante para que se produzca la absorción de calcio en el intestino delgado. La vitamina C es esencial en la formación del colágeno, principal proteína de sostén del tejido conectivo de la piel, de los tendones, del cartílago y de los huesos. La mayor parte del calcio y fósforo del organismo está en los huesos.

(Anatomía y Fisiología del sistema óseo)

1.4 ESTRUCTURA DE LOS HUESOS

Si se hace un corte longitudinal en el hueso largo podemos observar las siguientes estructuras:

- El periostio o membrana fina conjuntiva que recubre todo el hueso.
- El tejido compacto, que parte desde los extremos o epífisis y se engruesa en el centro o diáfisis
- El tejido esponjoso, que se ubica en la epífisis y constituye la médula ósea
- El canal medular, que se encuentra ocupado por la médula ósea. En la médula ósea roja se encuentran los eritoblastos, de los cuales se originan los eritrocitos o glóbulos rojos, por tanto, esta estructura constituye el principal órgano hematopoyético.

En cuanto a su estructura microscópica el tejido óseo está constituido por células óseas u osteoblastos y sustancia fundamental. En un corte transversal se observan los canales de Havers, alrededor de los cuales se disponen en capas concéntricas las laminillas.

1.5 TIPOS DE HUESOS

Según su tamaño y forma, se pueden diferenciar tres tipos de huesos: huesos largos, planos y cortos.

Los huesos largos, como los de las extremidades, son cilíndricos y alargados. Disponen de un cuerpo central o diáfisis y de dedos extremos o epífisis, que forman parte de las articulaciones. Constan de una corteza, que es una capa externa de tejido óseo compacto de varios milímetros de espesor, y es la que brinda solidez al hueso, y de una zona interna denominada cavidad medular. La corteza está revestida por fuera por una lámina de tejido conjuntivo y óseo denominada endostio. La cavidad medular de los extremos óseos está rellena de un tejido óseo esponjoso, poco denso. En las zonas centrales de los huesos, la cavidad alberga un tejido distinto: la médula ósea.

Los huesos planos, como los del cráneo, el esternón, las costillas o los huesos ilíacos, son delgados, planos y anchos. Cuentan con una capa externa de tejido óseo compacto, y están rellenos de tejido óseo esponjoso.

El hueso no es totalmente sólido, sino que tiene pequeños espacios entre sus componentes, formando pequeños canales por donde circulan los vasos sanguíneos encargados del intercambio de nutrientes. En función del tamaño de estos espacios, el hueso se clasifica en compacto o esponjoso.

- **Hueso Compacto:** constituye la mayor parte de la diáfisis de los huesos largos, así como de la parte externa de todos los huesos del cuerpo. El hueso compacto constituye una protección y un soporte. Tiene una estructura de láminas o anillos concéntricos alrededor de canales centrales llamados canales de Havers que se extienden longitudinalmente. Los canales de Havers están conectados con otros canales llamados canales de Volkmann que perforan el periostio. Ambos canales son utilizados por los vasos sanguíneos, linfáticos y nervios para extenderse por el hueso.
- **Hueso esponjoso:** a diferencia del hueso compacto, el hueso esponjoso no contiene osteones, sino que las láminas intersticiales están dispuestas de forma irregular

formando unos tabiques o placas llamadas trabéculas. Estos tabiques forman una estructura esponjosa dejando huecos que están llenos de la médula ósea roja.

El hueso esponjoso es el principal constituyente de las epífisis de los huesos largos y del interior de la mayor parte de los huesos.

Es un tejido muy consistente, resistente a los golpes, presiones y tracciones, pero también elástico, protege órganos vitales como el corazón, pulmones, cerebro, etc., asimismo permite el movimiento en partes del cuerpo para la realización de trabajo o actividades estableciendo el desplazamiento del individuo. Es también un depósito de calcio móvil, órgano hematopoyético (alberga a la médula: formador de los componentes formadores de la sangre (Dr. Aurelio Martínez 2004).

1.6 PRINCIPALES FUNCIONES DE LOS HUESOS

La mayor parte del calcio y del fósforo que hay en el organismo está almacenado en los huesos. Estos minerales le dan consistencia y resistencia ante los distintos golpes y presiones a los que está sometido el hueso.

Los huesos cumplen diferentes funciones importantes entre ellas:

- **Soporte:** Los huesos son la base donde todos los demás tejidos se sostienen, así como el sitio donde los músculos se originan y actúan para producir el movimiento corporal.
- **Protección de Órganos y Tejidos:** Los órganos vitales están protegidos por huesos, por ejemplo, el cerebro está protegido por el cráneo. El corazón y los pulmones por las costillas, el esternón y la columna. Esta última sirve también para proteger a los nervios que conectan el cerebro con el resto del cuerpo (Médula espinal).
- **Almacenamiento de Minerales:** Principalmente el Calcio y Fósforo que son indispensable para dar fuerza a los huesos, pero también se requieren para la contracción muscular, la transmisión de impulsos nerviosos y funciones de los órganos internos.

- **Producción de sangre:** Dentro de los huesos, principalmente los de las extremidades y la pelvis, existe la Médula Roja, donde se producen los glóbulos rojos o eritrocitos, los cuales son los responsables del transporte de oxígeno a los tejidos. Se calcula que se producen unos 2.6 millones de eritrocitos por segundo. También dentro de los huesos existen otras áreas donde se almacena grasa, la llamada Médula Amarilla (conocido popularmente como el tuétano).
- **Crecimiento y Forma Corporal:** Los huesos son los que producen el crecimiento de las extremidades y la columna, lo que nos da la estatura. (Dr. Aurelio Martínez)
- **Remodelado Óseo:** La mayor parte del hueso se forma antes del nacimiento, pero es renovado continuamente a lo largo de la vida. El tejido óseo no se encuentra nunca en reposo, sino que constantemente se renueva. Incluso los huesos largos son continuamente remodelados, destruyéndose hueso viejo que es sustituido por hueso nuevo. Este remodelado permite que el hueso pueda ser una reserva continua del calcio que el organismo necesita para otras funciones. (Curso de Fisiología. Sistema Óseo 2005).

1.7 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE LOS CAMÉLIDOS

Las cuatro especies tienen el labio superior hendido. La dentadura se caracteriza por presentar un incisivo y un canino permanente en el maxilar superior y canino presentes en el maxilar inferior; los caninos están más desarrollados en los machos que en las hembras. Las vértebras cervicales son alargadas sin orificio para la arteria vertebral, mientras que los huesos del carpo y del tarso se encuentran separados. Las falanges son separadas y divergentes y la segunda falange termina en dos almohadillas, con una uña. La anatomía de las piernas traseras les permite descansar sobre el vientre con las rodillas dobladas y los garrones hacia atrás (Wheeler, 1991).

TABLA I-7

7 PRINCIPALES INDICADORES ÓSEOS DIFERENCIALES DEL ESQUELETO AXIL

Pieza ósea	Indicadores	Llama	Guanaco	Alpaca	Vicuña
CABEZA					
Parietal	Grado de curvatura	Convexos transversalmente	Convexos transversalmente	Convexos transversalmente	Convexos sagital y transversalmente
Frontal	Surco supraorbitario (porción aboral)	Se extiende hasta porción media de la unión internasal	Converge hacia sutura frontal	Llega por delante del hueso nasal	Converge hacia la sutura frontonasal
Región frontoparietal	Área triangular	Tiende a ser isósceles	Tiende a ser isósceles	Tiende a ser equilátera	Tiende a ser equilátera
Nasal	Grado de curvatura	Convexo	Convexo	Aplanado transversalmente y ancho aboralmente	Convexo
Maxilar	Abertura en relación con tuberosidad maxilar	Muy abierta	A manera de surco	Muy abierta	A manera de surco
Palatinos	Arcada palatina	Comienzo a nivel del 5to molar superior	Inicio a nivel del 4to molar superior	Inicio a nivel del 4to molar superior	Inicio a nivel del 4to molar superior
Mandíbula	Agujero mentoniano	Se sitúa entre el canino y comienzo de la bifurcación, ubicándose más cerca a este último punto	Se sitúa entre el canino y origen de bifurcación de las ramas horizontales	Se observa a nivel de inicio de bifurcación de ramas horizontales	Se sitúa a nivel de la bifurcación de ambas ramas
	Cuerpo	Es más corto y más ancho que el guanaco y es convexo oralmente	Muy largo, angosto, acanalado y aguzado oralmente	Es más corto y más ancho que llama y más convexo	Es más corto y más parecido al guanaco
	Ramas horizontales	Ángulo de separación es menor que el guanaco y la alpaca	Ángulo de separación es mayor que llama y vicuña	Ángulo de separación es mayor que llama y vicuña	Ángulo de separación es menor que guanaco y alpaca
	Agujero mandibular	Espina casi imperceptible	Se observa ligeramente cubierto por una espina	Parcialmente cubierta por una espina (más desarrollada que guanaco)	Parcialmente cubierta por una espina (más desarrollada que guanaco)
Dientes incisivos	Corona	Tres caras visibles y presencia de infundíbulo.	Se observan 2 caras y el ancho de los mismos disminuye hacia la parte empotrada	Con 3 caras y presencia de infundíbulo	2 caras muy largas y con un ancho constante en toda la longitud
Molares inferiores	Cresta situada en la parte anterior de	No se aprecia	Se observa a partir de la 2 ^{da} pieza	Se aprecia débilmente en el 3 ^{ro} y es evidente en el 4 ^{to}	Se presenta débilmente en la 3 ^{ra} pieza, es evidente en la 4 ^{ta}

	la cara labial				
	Surco en cara labial	Poco profundo	Muy profundo	Poco profundo	Muy profundo
Fontanelas	-	Existen	Existen	Ausencia	Muy profundo
Occipital	Apófisis paramastoides	Es larga	Es larga	Es corta y en parte libre, está a nivel de la porción ventral de los cóndilos del occipital	Es larga
Temporal	Surco oral al proceso acústico externo	Existe	Ausente	Existe	Existe
COLUMNA VERTEBRAL					
Segmento Cervical	Cuerpo vertebral	Comprimido y largo	Comprimido y largo	Comprimido y largo	Características muy evidentes en esta especie
	Apófisis espinosa	Rectangular de situación oral	Rectangular de situación oral	Igual que especies anteriores pero más delgada y más baja	Se observa como una cresta convexa longitudinalmente con un engrosamiento en su parte media
	Apófisis transversas (porción caudal)	Es ancha y delgada	Es más ancha y más gruesa	Es ancha y delgada	Es ancha y delgada
Segmento torácico	Apófisis espinosa	Rectangulares en toda su extensión. Se forma un surco muy tenue sobre apófisis articulares caudales	Tiende a aguzarse dorsalmente. Se forma un surco amplio por sobre las apófisis articulares caudales	Rectangulares Se observa un surco muy ligero	Rectangulares Se forma un surco muy tenue
	Apófisis transversa	Son más anchas que largas	Igual que llama	Son proporcionalmente más largas que anchas	Igual que alpacas
Segmento lumbar	Apófisis mamilares	De gran desarrollo	Poco desarrolladas	Poco desarrolladas	Poco desarrolladas
	Apófisis transversa	Arqueadas en forma de semiluna, tienden a aguzarse hacia los extremos	Arqueadas en forma de semiluna, el ancho permanece sin alteraciones	Tienden a formar una "V" corta	Tienden a formar una "V" corta
	Apófisis articulares	Menos desarrolladas	Largas y voluminosas	Menos desarrolladas	Menos desarrolladas que guanaco

Fuente: Avances de Medicina Veterinaria, Vol.7, N°1, Enero- Junio, 1992

1.8 IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO: COLÁGENO

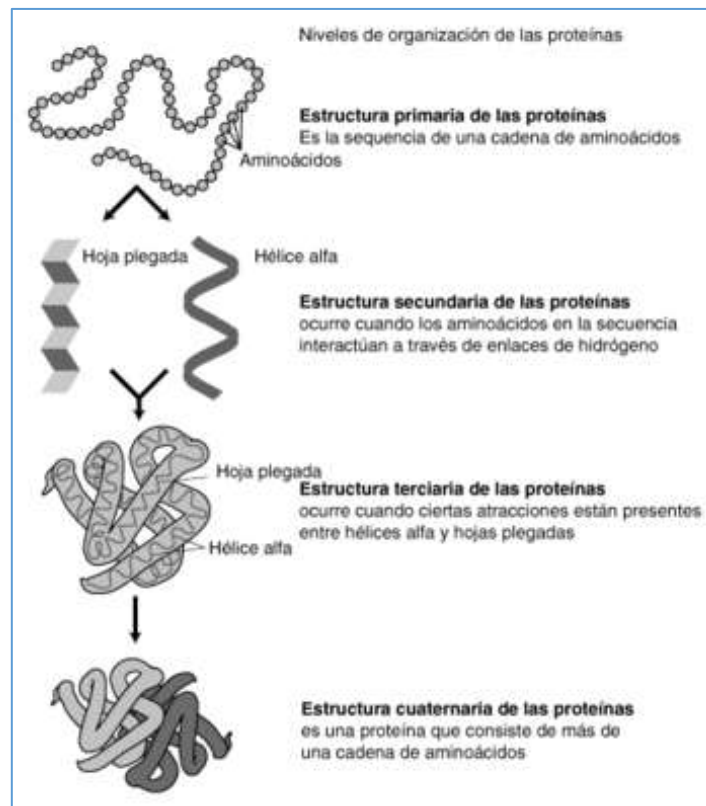
1.8.1. Proteínas

Las proteínas son materiales biológicos de alto peso molecular, y constituyen una gran parte del cuerpo animal, lo mantienen como unidad y lo hacen funcionar. Se las encuentra en toda célula viva, principalmente en los músculos, los tendones, la piel, los nervios, la sangre, las uñas las enzimas, los anticuerpos, las hormonas.

Desde el punto de vista químico son polímeros de elevado peso molecular, constituidos por C,H,O,N y otros elementos.

Las proteínas son poliamidas las cuales por hidrólisis dan ácidos α amino carboxílicos o aminoácidos.

FIGURA 1.3
ESTRUCTURA DE UNA PROTEINA



Fuente: Estructura de las proteínas. Proyecto del Genoma Humano

Éstos ácidos α aminocarboxílicos se encuentran condensadas en cadenas largas polipeptídicas. Aunque las proteínas difieren considerablemente en el contenido de aminoácidos individuales y el orden en el cual aparecen, el contenido de nitrógeno es casi tan constante (16%) que se usa como base para calcular la cantidad de proteína en los alimentos. (SEYMOUR, Raymond B; CARRAHER. 1995).

1.8.1.1 Propiedades Características de las Proteínas.

Capacidad amortiguadora

Las proteínas tienen un comportamiento anfótero y esto las hace capaces de neutralizar las variaciones de pH del medio, ya que pueden comportarse como un ácido o una base y por tanto liberar o retirar protones (H^+) del medio donde se encuentran.

Solubilidad

Las proteínas son solubles en agua cuando adoptan una conformación globular. La solubilidad es debida a los radicales (-R) libres de los aminoácidos que, al ionizarse, establecen enlaces débiles (puentes de hidrógeno) con las moléculas de agua. Así, cuando una proteína se solubiliza queda recubierta de una capa de moléculas de agua (capa de solvatación) que impide que se pueda unir a otras proteínas lo cual provocaría su precipitación (insolubilización). Esta propiedad es la que hace posible la hidratación de los tejidos de los seres vivos.

Desnaturalización

La desnaturalización de una proteína se refiere a la ruptura de los enlaces que mantenían sus estructuras cuaternaria, terciaria y secundaria, conservándose solamente la primaria. En estos casos las proteínas se transforman en filamentos lineales y delgados que se entrelazan hasta formar compuestos fibrosos e insolubles en agua. Los agentes que pueden desnaturalizar a una proteína pueden ser: calor excesivo; sustancias que modifican el pH; alteraciones en la concentración; alta salinidad; agitación molecular; etc. El efecto más visible de éste fenómeno es que las proteínas se hacen menos solubles o insolubles y que pierden su actividad biológica.

La mayor parte de las proteínas experimentan desnaturalizaciones cuando se calientan entre 50 y 60 ° C, otras se desnaturalizan también cuando se enfrían por debajo de los 10 a 15 ° C. La temperatura a la cual una proteína se desnaturaliza es la temperatura de desnaturalización.

Especificidad

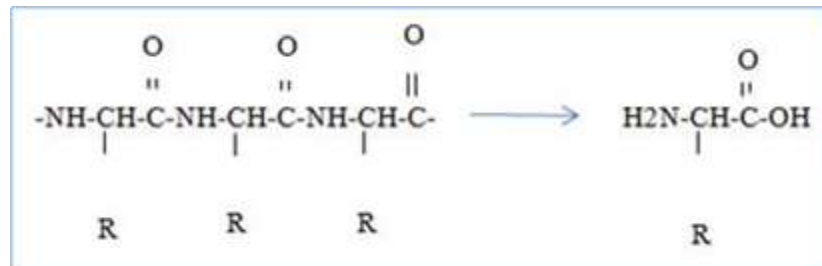
Es una de las propiedades más características y se refiere a que cada una de las especies de seres vivos es capaz de fabricar sus propias proteínas (diferentes de las de otras especies) y, aún, dentro de una misma especie hay diferencias proteicas entre los distintos individuos. Esto no ocurre con los glúcidos y lípidos, que son comunes a todos los seres vivos. La enorme diversidad proteica inter-específica e intra-específica es la consecuencia de las múltiples combinaciones entre los aminoácidos, lo cual está determinado por el ADN de cada individuo.

La especificidad de las proteínas explica algunos fenómenos biológicos como: la compatibilidad o no de trasplantes de órganos; injertos biológicos; sueros sanguíneos; etc., o los procesos alérgicos e incluso algunas infecciones.

1.8.2 Aminoácidos

Son sustancias que tienen como característica general el hecho de poseer un carboxilo libre y un grupo amino, situado en el carbón alfa con respecto al carboxilo. La fórmula general de un aminoácido es:

FIGURA 1.4
ESTRUCTURA GENERAL DE UN AMINOÁCIDO



Fuente: ING.ANDREA CAROLINA NUÑEZ SOLIZ, “Obtención de una película de bioplástico a partir de colágeno de las patas de pollo”

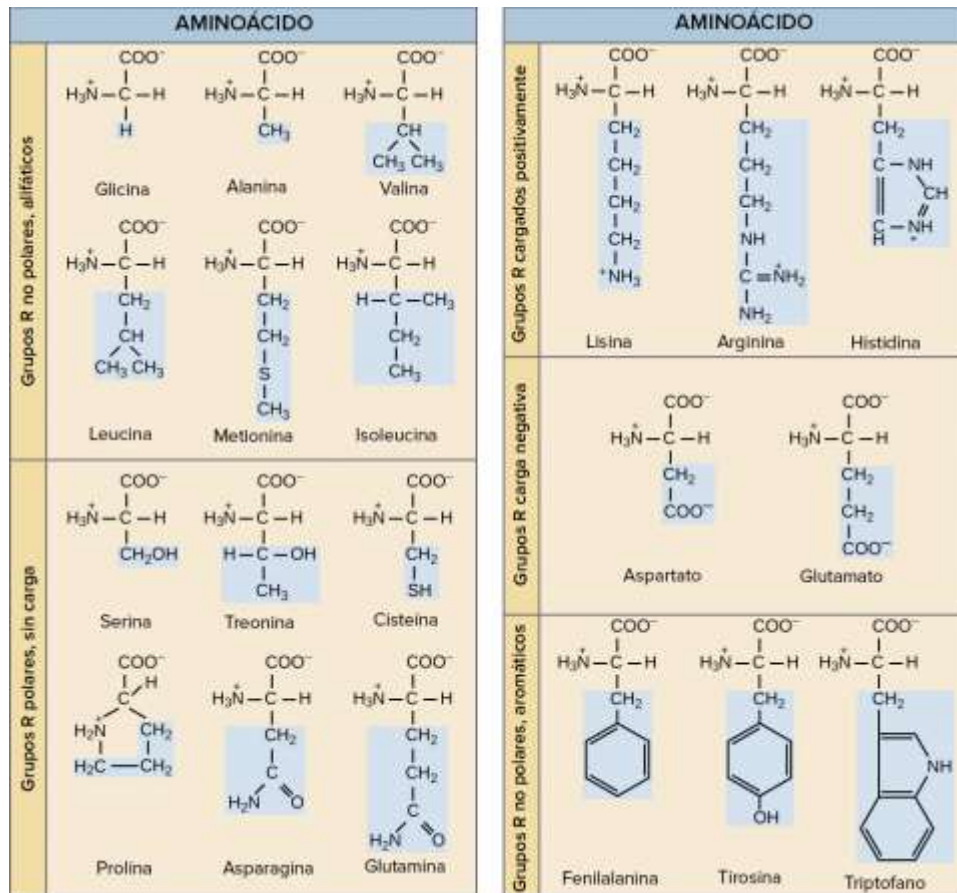
En una proteína las cadenas laterales R (Radicales) de los aminoácidos determinan la reactividad y estructura de las proteínas. Así si n las cadenas R existen grupos carboxilo, éstos se denominan como aminoácidos ácidos, y si existen en la cadena R grupos amino se denominan aminoácidos básicos, y los demás compuestos se denominan aminoácidos neutros.

Cualquier modificación en la secuencia de aminoácidos podría ocasionar un cambio en la estructura tridimensional y afectará la función biológica de la proteína.

Existen más de 200 aminoácidos diferentes, solo cerca de una décima parte de ellos forman parte de las proteínas. En la (Figura 1.5) se observan las estructuras químicas de los aminoácidos encontrados en las proteínas.

FIGURA 1.5

ESTRUCTURA DE AMINOACIDOS CONTENIDOS EN LAS PROTEINAS



Fuente: Introducción a las proteínas y aminoácidos

1.8.3 Características del colágeno

Una fibra colágena, como un trozo de cuerda, está constituida por pequeños filamentos unidos entre sí. Una molécula de colágeno consiste en una cadena de tres proteínas envueltas una alrededor de otras, y cada una de ellas constituida por una cadena de unidades pequeñas, llamadas aminoácidos. Las moléculas de colágeno se entrelazan desde la cabeza a la cola, para formar largos cilindros (fibrillas), que a su vez se unen en fibras más grandes. El colágeno se mezcla con una amplia gama de sustancias. Eso permite dar a cada tejido específico en que estas moléculas

intervienen, propiedades únicas. Así por ejemplo en el hueso, el colágeno se mezcla con los cristales de calcio, proporcionándole una estructura rígida. Los tendones tienen una gran fuerza de tracción, porque el colágeno forma en ellos una estructura paralela y cruzada. En los cartílagos (un tejido conectivo que se encuentra en las articulaciones), el colágeno se combina con un gel, para crear un efecto completamente diferente, que da resistencia a la compresión. En la piel, el colágeno junto con una proteína elástica, forman una red, lo que permite darle elasticidad sin que se quiebre. La córnea del ojo es transparente como resultado del arreglo del colágeno en una red muy fina. Del mismo modo, en los riñones, el colágeno constituye la base del sistema de filtro entre la sangre y la orina.

1.8.4 Estructura química del colágeno

La Triple Hélice

Una molécula de colágeno consiste en una cadena de tres proteínas (cadena alfa), cada una de ellas curvada en una hélice hacia la izquierda. A su vez esta cadena está entrecruzada en una hélice izquierda para formar un cable derecho o triple hélice.

En otras palabras, una cadena de tres proteínas, en que una está formada por una cadena con aproximadamente un largo de 1000 aminoácidos. Todas ellas constituyen una molécula de colágeno simple. En cada punta de la molécula de colágeno, hay además unos pocos aminoácidos extras, que no forman parte de la hélice.

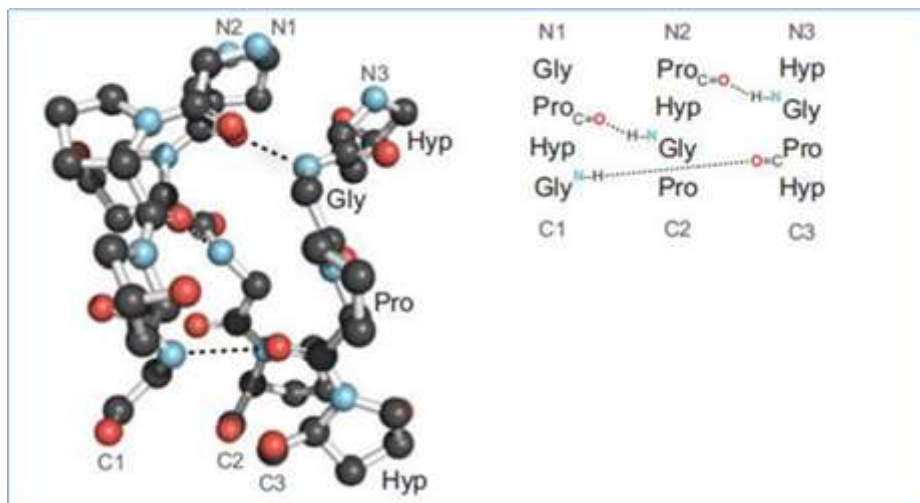
Ellos son responsables de formar fuertes uniones con otras moléculas cercanas, especialmente colágeno.

La cadena alfa tiene una estructura muy regular. En ella, el aminoácido “glicina” (gli), se repite a intervalo de tres, de modo que la secuencia de aminoácidos va del siguiente modo: gli-A-B-gli-A-B (A y B pueden ser cualquier aminoácido, excepto aquellos que contienen azufre). La glicina es el aminoácido más pequeño de todos, de modo que ocupa el menor espacio de la cadena. Este arreglo de uno en tres, significa que siempre la glicina está posesionada en el centro de la hélice, permitiendo a la molécula estructurarse muy estrechamente. (Ver Figura 1.6)

En el colágeno normal, un tercio de todos sus aminoácidos son glicina. Otro tercio de la cadena alfa, está constituida por “prolina” e “hidroxiprolina”. También hay “hidroxilisina” y otros varios aminoácidos. La secuencia de glicina-prolina, es muy común. Otras proteínas estructurales, como la “fibroína”, un ingrediente clave de la elastina, que le da a la piel y otros órganos su elasticidad, también está constituida por una serie repetitiva de aminoácidos.

La principal función del colágeno es mantener la estructura de los tejidos animales y mejorar la fuerza, resistencia y flexibilidad de los tejidos. Cuando se va perdiendo la calidad y cantidad de esta proteína, la piel va disminuyendo su elasticidad, también se presenta fragilidad en uñas, pérdida de elasticidad del cabello, aparición de manchas tipo lunar en brazos y manos, endurecimiento de los tejidos y las válvulas cardiacas, fragilidad de los discos intervertebrales y desgaste de meniscos.

FIGURA 1.6
SECUENCIA DE AMINOÁCIDOS EN EL COLÁGENO



Fuente: Tesis. María Tatiana Huanca. “Recuperación de colágeno de desechos de sábalo, especie de pescado consumido en la ciudad de la paz, con fines cosméticos”

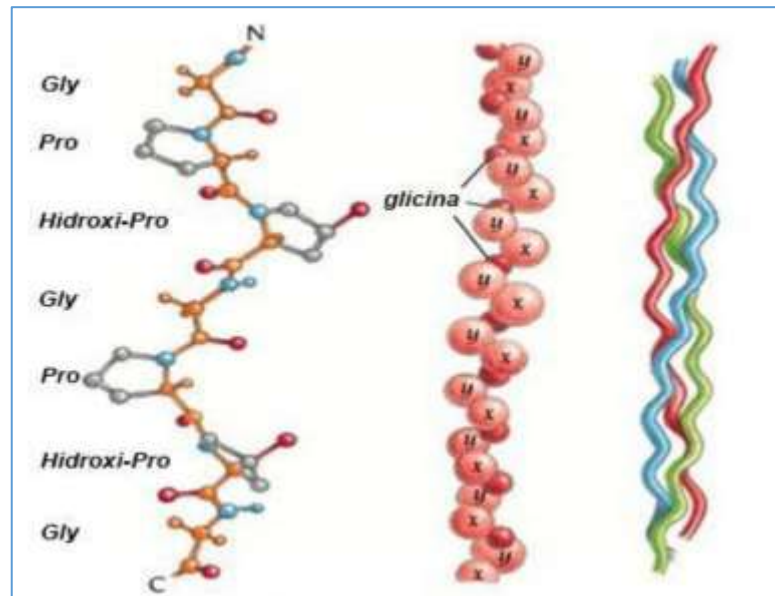
TABLA I-8**8 AMINOÁCIDOS EN COLÁGENO TIPO I**

Aminoácido	Contenido (%)	Número por molécula
Glicina (Gly)	33.53	1056
Prolina (Pro)	11.97	377
Hidroxiprolina (Hyp)	11.18	352
Aspargina (Asn)	1.19	37
Acido aspártico (Asp)	3.07	97
Glutamina (Gin)	2.57	81
Acido Glutámico (Glu)	4.75	150
Lisina (Lys)	3.17	100
Hidroxilisina (Hyl)	0.4	13
Arginina (Arg)	5.04	159
Histidina (His)	0.20	6
Serina (Ser)	3.46	109
Tirosina (Tir)	0.2	6
-CO-NH-		3147

Fuente: Elaboración Propia

Con el desarrollo de las aplicaciones enunciadas, el colágeno se ha convertido en un producto de alta demanda en diferentes sectores productivos del mundo, creando la necesidad de tener una fuente de esta proteína que permita su fácil extracción y que su rendimiento sea lo suficientemente alto para reducir costos de producción y abastecer parte de la demanda de esta fuente de proteína.

FIGURA 1.7
ESTRUCTURA QUÍMICA DEL COLÁGENO



Fuente: Estructura del Colágeno.2017

1.8.5 Característica del colágeno hidrolizado

Colágeno Hidrolizado. Producto obtenido a partir del colágeno que se compone de cadenas cortas de aminoácidos (péptidos), lo que incrementa su biodisponibilidad. El colágeno hidrolizado se disuelve fácilmente en líquidos fríos sin dilatarse ni calentarse.

Al igual que la gelatina, el colágeno hidrolizado se forma por un proceso de hidrólisis a partir de colágeno de tipo 1, el mismo colágeno que forma los huesos y la piel de los seres humanos. Es un producto natural que contiene más de un 97% de proteína (basado en su peso seco, el colágeno hidrolizado contiene 18 aminoácidos, incluidos 8 de los 9 aminoácidos esenciales). Se caracteriza por el predominio de glicina, prolina e hidroxiprolina, que representan aproximadamente el 50% del contenido total de aminoácidos. Esta composición específica de aminoácidos proporciona al

colágeno hidrolizado las propiedades funcionales que no se encuentran en otras fuentes de proteínas.

TABLA I-9
9 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL COLÁGENO HIDROLIZADO

Características	Descripción
Material	Muestra seca
Método de extracción	Hidrolisis acido-base
Composición Química	% Glicina 33.53 %Prolina 11.97 %Hidroxiprolina 11.8
Color	Amarillo pálido muy claro
Cenizas	$\geq 2\%$
Soluble	90-95

Fuente: Peptiplus SB aggl

1.8.6 Tipos de Colágeno Hidrolizado

En la naturaleza se encuentran 28 tipos de colágeno, que se diferencian por su secuencia aminoácida y sus diferentes funciones. El colágeno tipo I es el más abundante de todos los colágenos y es de gran importancia en el campo de los biomateriales, la industria farmacéutica y cosmética lo que ha impulsado la investigación para encontrar nuevas fuentes de obtención de esta proteína.

A continuación, se describe algunos de los tipos de colágeno.

1.8.6.1 Colágenos Mayores

- **Colágeno tipo I:** (presente en cartílago, hueso, tendón y cornea), “es un biopolímero compuesto de 2 cadenas $\alpha 1$, y una cadena $\alpha 2$, conteniendo aproximadamente 1050 aminoácidos en cada cadena. Éste tipo de colágeno contiene 1/3 de Glicina, no contiene triptófano y es muy baja en histidina y tirosina. Además, el colágeno de tipo I es el único que puede ser usado para la

elaboración de gelatina, la cual puede ser obtenida de diferentes recursos como bovino, porcino, piel de pescado, meduzas, patas de pollo. Sin embargo, la composición de aminoácidos varía únicamente un poco como por ejemplo las gelatinas obtenidas de la piel de chanco o huesos no contienen cistina, pero al mismo tiempo las gelatinas de piel de pescado y huesos contienen menos glicina que las hechas con recursos mamíferos. (SEYMOUR, Op.Cit., p.128)

Su organización supramolecular es de fibrillas. Se encuentra en todos los tejidos conjuntivos y es totalitario a nivel del hueso y dentina.

- **Colágeno tipo II:** Posee organización supramolecular en finas fibrillas. Se encuentra a nivel de cartílagos y del humor vítreo ocular.
- **Colágeno tipo III:** Este colágeno posee residuos de cisteínas que permiten la formación de puentes disulfuro en el seno de la hélice. Este colágeno asociado al colágeno de tipo I se encuentra en la mayor parte del tejido conjuntivo.
- **Colágeno tipo IV:** Posee zonas colagénicas y zonas no colagénicas, pues su baja cantidad de glicina proporciona zonas no organizadas a nivel de la porción helicoidal. Este colágeno se encuentra en las membranas basales.

TABLA I-10
10 TIPOS DE COLAGENO

DIFERENTES TIPOS DE COLAGENO		
Tipo	Distribución	Características
I	Huesos, tendones, piel, dentina, ligamentos, etc.	Forma predominante en los organismos vertebrados
II	Cartílagos	Contenido relativamente alto en hidroxilisina e hidroxilisina glucosada
III	Piel, arterias y humero	Contenido alto en hidroxilisina e hidroxilisina glucosada
IV	Membranas bacilares	Contenido alto en hidroxilisina e hidroxilisina glucosada, contiene enlaces diluyentes entre las cadenas

Fuente: Sexto congreso Mundial de Camélidos Sudamericanos, 2012

1.8.7 Propiedades y Ventajas del Colágeno Hidrolizado

Propiedades

El colágeno hidrolizado es un polvo blanco inodoro, de sabor neutro y que se disuelve fácilmente en líquidos fríos sin dilatarse ni calentarse. Es un agente

emulsionante y espumante, texturizador y aglutinante. Está formado por la misma materia prima que la gelatina, aunque no tiene su comportamiento gelificante.

Durante largos años, las propiedades de esta proteína han sido objeto de sesudas investigaciones de las que han conseguido extractarse importantes conclusiones, la mayoría favorables hacia su grado de bondad sobre el funcionamiento de diversas partes del cuerpo humano. Precisamente con la inercia de los más recientes estudios y sus concluyentes resultados se ha producido una profusión de productos que han copado el mercado de la dietética a base de mezclas de colágeno de origen bovino, porcino y marino.

Ventajas

Las ventajas para la salud y la belleza del colágeno hidrolizado se conocen desde hace mucho tiempo. Ahora se ha demostrado científicamente que 10 gramos de colágeno hidrolizado al día suplen las necesidades diarias para la salud de las articulaciones, huesos y piel de un adulto. El colágeno hidrolizado se ha convertido en un ingrediente clave para la industria nutracéutica (alimentos funcionales, bebidas, suplementos dietéticos) y cosmética.

Valiosa fuente de proteínas, también es muy importante para las dietas de alto contenido proteico y la nutrición de los deportistas.

En comparación con otras proteínas hidrolizadas como la soja o el suero de leche, el colágeno hidrolizado no tiene un sabor amargo que haya que enmascarar en el producto final. Además, el colágeno hidrolizado no tiene potencial alergénico conocido como otras proteínas (leche, soja, etc.).

Al contrario que otros ingredientes para la salud de las articulaciones, tiene antecedentes científicos válidos sin efectos secundarios negativos. Se incorpora fácilmente a los procesos de producción actuales.

1.8.8 Aplicaciones

- **Salud**

En la salud el colágeno es utilizado como un biomaterial, que es una sustancia o un elemento sintético, que es usado para reemplazar alguna función que realice alguna parte del cuerpo. (Potaros, 2009).

- **Cosmética**

En este campo es muy utilizado para la producción de máscaras faciales y cremas corporales, ya que por sus propiedades es bueno para la reducción de estrías, arrugas y cicatrices, es también un buen hidratante de la piel y agrega suavidad a esta.

- **Medicamentos**

Espojas hemostáticas de Colágeno Hidrolizado, muy útiles en odontología especialmente usado en cirugías por su alto poder hemostático, otra aplicación es en parches cicatrizantes, también es usado para la formación de capsulas, pastillas, etc.

- **Alimentos**

Es usado para la producción de carnes frías, ya que mejora el contenido proteico, estabiliza la grasa.

Para el revestimiento del embutido también es muy usado, ya que se obtiene un producto libre de riesgo sanitario a diferencia del revestimiento natural, es un material seguro y se obtienen productos de mejor calidad.

1.8.9 Diferencias Entre el Colágeno Nativo y Colágeno Hidrolizado

El colágeno en estado natural es una molécula muy grande y pesada prácticamente inasimilable por el organismo humano al consumirlo por vía oral (menos de 1%), lo que quiere decir que su biodisponibilidad es muy reducida.

El colágeno hidrolizado es colágeno nativo extraído de tejidos ricos en colágeno de animales aptos para el consumo humano (vacuno cerdo, pescado etc.) el cual es

sometido a un proceso de hidrólisis. Mediante este proceso se obtiene un producto puro, seguro y altamente biodisponible, ya que las moléculas grandes y pesadas que conforman el colágeno son divididas en partículas mucho más pequeñas (PÉPTIDOS DE COLÁGENO) facilitando de manera considerable su digestión y absorción por el intestino humano (MÁS DEL 90% DE LA DOSIS INGERIDA ES EFECTIVAMENTE ASIMILADA), de esta forma constituye una fuente de colágeno para nuestro organismo.

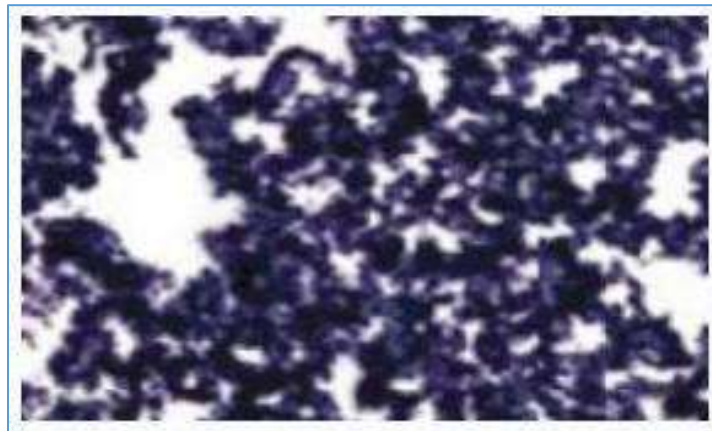
Es importante mencionar que la proteína nativa de colágeno contiene los mismos aminoácidos y en cantidades muy similares en los distintos tipos de tejidos animal utilizados para elaborar colágeno hidrolizado. Por tanto, su pureza, biodisponibilidad, solubilidad y seguridad alimentaria dependen de su proceso de elaboración y no de la especie animal o tejido del cual sea extraído.

(Instituto Valenciano de Ozonoterapia Ivo 3T)

En las figuras 1.8 y 1.9 se observa microscópicamente la diferencia que existe entre el Colágeno nativo y el Colágeno Hidrolizado.

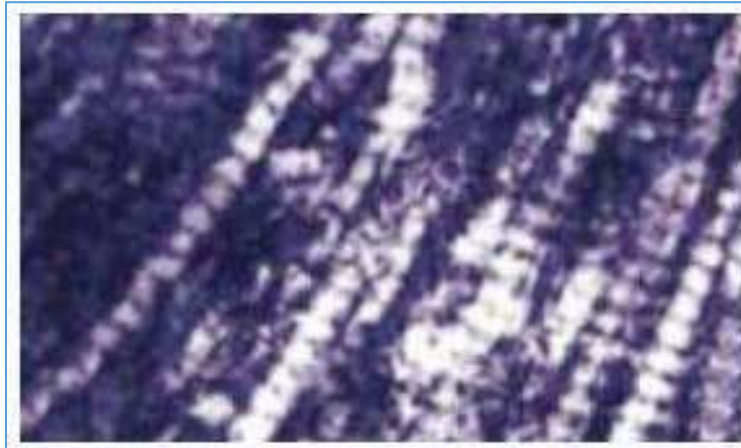
FIGURA 1.8

VISTA MICROSCÓPICA DE FIBRAS COLÁGENAS HIDROLIZADAS.



Colágeno Hidrolizado: Cortado en pequeños trozos

FIGURA 1.9
VISTA MICROSCÓPICA FIBRAS COLÁGENAS NATIVAS



Colágeno no Hidrolizado: Conserva su estructura original

1.8.10 Diferencias con la Gelatina

Gelatina: compuesto proteico soluble obtenido de hidrólisis parcial del colágeno.

Según Reglamento CE 853/2004 de 29 de abril, “la proteína natural, soluble, gelificante o no, obtenida mediante la hidrólisis parcial del colágeno producido a partir de huesos, pieles, tendones y nervios de animales” (Colágeno 2003).

“La gelatina es una proteína, la cual es soluble en agua caliente y se obtiene por desnaturalización parcial del colágeno a través de diferentes tratamientos que involucran una hidrólisis ácida o alcalina” (Eastoe y Leach, 1977; Johnston-Banks, 1990).

La diferencia fundamental entre la gelatina y el colágeno hidrolizado radica en que este último no tiene capacidad de gelificación. Esto se debe a que su peso molecular es mucho más bajo. Desde un punto de vista técnico, las diferencias son importantes: mientras que la gelatina es una proteína compuesta de cadenas extremadamente largas de aminoácidos, el colágeno hidrolizado se compone de cadenas cortas de aminoácidos denominadas "péptidos". Esto supone un alto grado de biodisponibilidad

que permite que los péptidos atraviesen las paredes del intestino y pasen a la corriente sanguínea.

Debido a sus cadenas de péptidos más cortas, no es capaz de construir los enlaces cruzados que se necesitan para formar un gel. El colágeno hidrolizado se disuelve fácilmente en líquidos fríos sin dilatarse ni calentarse. Las propiedades emulsionantes, aglutinantes o espumantes no varían.

Al igual que la gelatina, los colágenos hidrolizados son proteínas de colágeno puras, aunque sin capacidad de gelificación.

1.8.11 Componentes Principales del Colágeno Hidrolizado

Entre los componentes principales del Colágeno Hidrolizado tenemos la Glicina, Prolina e Hidroxiprolina, son los tres aminoácidos principales que se presentan en diferentes proporciones en el colágeno hidrolizado.

Los aminoácidos son las unidades químicas (que podríamos hacer un símil como si éstos fueran bloques de construcción) que forman las proteínas, de manera que las sustancias de proteínas que se construyen gracias a los aminoácidos forman los órganos, tendones, músculos.

Dependiendo de si los aminoácidos pueden ser sintetizados por nuestro organismo o no, reciben el nombre de aminoácidos esenciales y de aminoácidos no esenciales. Así, los primeros deben ser aportados a través de la dieta porque nuestro cuerpo no es capaz de sintetizarlos por sí mismo, mientras que los segundos –los aminoácidos no esenciales- sí puede sintetizarlos o fabricarlos. (Lifeder)

Glicina

La glicina es un aminoácido no esencial que habitualmente se la conoce con el nombre de gly, es uno de los aminoácidos que forman las proteínas de los seres vivos y que también actúa como neurotransmisor, inhibiendo el sistema nervioso central.

La glicina realiza múltiples funciones tanto en el cuerpo como en el cerebro de los seres humanos.

De este modo, a pesar de no constituir uno de los aminoácidos esenciales, es altamente importante que el cuerpo contenga niveles elevados de glicina.

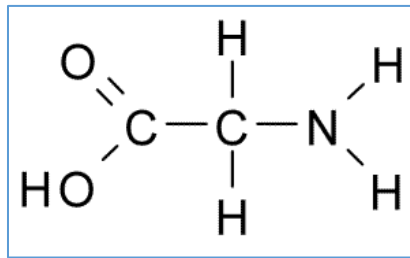
El descubrimiento de los beneficios que aporta esta sustancia y de las problemáticas que puede originar su déficit es el factor principal que ha convertido la glicina en un elemento de elevado interés para la nutrición (Liefeder 2015).

Las funciones de la glicina son muchas y muy importantes. Las principales son:

- Ayuda a controlar los niveles de amoniacó en el cerebro
- Actúa como un neurotransmisor tranquilizante en el cerebro
- Ayuda a controlar las funciones motoras del cuerpo
- Retarda la degeneración muscular

En la figura 1.10 podemos apreciar la estructura química de la glicina, del mismo modo en la tabla I.11 se muestran las propiedades fisicoquímicas del mismo.

FIGURA 1.10
ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA GLICINA



Fuente: Estructura de la glicina. Liefeder 2015

TABLA I.11***11 DATOS QUÍMICOS, FISICOQUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA GLICINA***

Fórmula	C ₂ H ₅ NO ₂
Masa molecular	75.07 g/mol
Punto de fusión	235.85 °C
Apariencia	Sólido Blanco
Acidez (pKa)	2.4/9.8
Densidad	1607 Kg/m ³
Punto Isoeléctrico	
pH	5,97

Fuente: Liefeder, 2015

Prolina

La prolina (Pro) es un aminoácido no esencial, lo que significa que nuestro organismo sí lo puede sintetizar por sí mismo.

Funciones de la prolina

- Fortalece las articulaciones y los tendones.
- Ayuda en el fortalecimiento de los músculos del corazón.
- Ayuda en la producción de colágeno.
- Mejora la textura de la piel.
- Reduce el riesgo de pérdida de colágeno.
- Ayuda en la cicatrización tanto de tejidos como de mucosas.
- Ayuda en la inmunidad de nuestro organismo al relacionarse con el mantenimiento de algunas inmunoglobulinas.

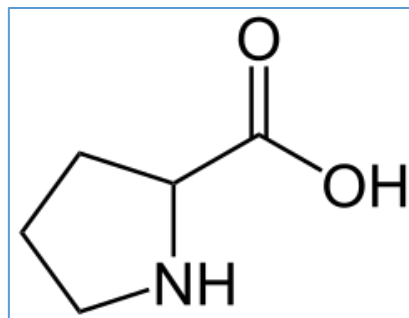
Beneficios de la Prolina para la Salud

Tal como hemos conocido a través del apartado anterior dedicado a las diferentes funciones de la prolina, nos encontramos ante un aminoácido no esencial que

comparte las funciones de síntesis de colágeno, ayudando a reducir el riesgo de la pérdida de colágeno y además ayuda en su producción.

Es útil en el fortalecimiento de las articulaciones y los tendones. De ahí que este aminoácido no esencial sea utilizado en la prevención de la artritis, al conservar las articulaciones. (Arribasalud, 2017).

FIGURA 1.11
ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA PROLINA



Fuente: Arribasalud, 2017

TABLA I.12

12 DATOS QUÍMICOS, FÍSICOQUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA PROLINA

Fórmula	$C_5H_9NO_2$
Masa molecular	115.13 g/mol
Punto de fusión	221 °C
Acidez (pKa)	1,95/10,47
Punto Isoeléctrico pH	6,3

Fuente: Arribasalud, 2017

Hidroxi prolina

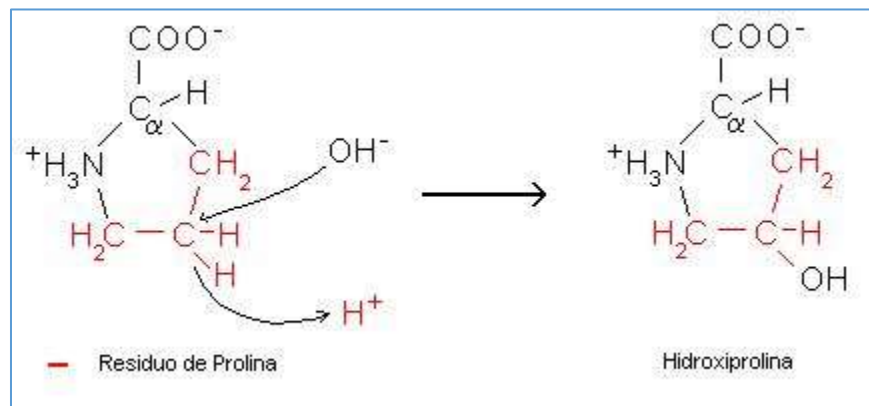
La hidroxiprolina es un aminoácido no esencial que consiste más concretamente en una hidroxilación de la prolina, un aminoácido igualmente no esencial del que originalmente deriva.

Para que esta hidroxilación se produzca no solo es necesario que exista prolina, también se necesita la presencia de glicina.

El proceso se puede esquematizar como sigue:

FIGURA 1.12

REACCIÓN DE LA HIDROXI PROLINA



Fuente: Liefeder, 2015

Funciones de la Hidroxiprolina

- Necesaria para la síntesis del colágeno a nivel del tejido cutáneo y de los huesos.
- Ayuda a prevenir o evitar el ataque de microorganismos externos.

TABLA I.13

*13 DATOS QUÍMICOS, FISICOQUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA
HIDRO
XIPRO
LINA*

Fórmula	$C_5H_9NO_3$
Masa molecular	131.13 g/mol

Fuente: Liefeder,2015

1.9 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE COLÁGENO HIDROLIZADO

1.9.1 Hidrólisis en el Colágeno

Existen tres tipos de hidrólisis:

- **Hidrólisis Térmica**

Se realiza elevando considerablemente la temperatura de la solución de colágeno, provocando la ruptura drástica de los enlaces y sin ningún orden, generando compuestos que afectan el color, sabor y olor de las soluciones.

- **Hidrólisis Química**

Se utilizan ácidos o álcalis fuertes para romper la molécula, también es una ruptura drástica sin ninguna selección de los enlaces. Para ajustar posteriormente el pH de la solución se utilizan químicos nuevamente lo cual genera sales y otros residuos.

Método Alcalino

Este método tiene una fuerte capacidad de hidrolizar las fibras de colágeno, se utiliza generalmente para la extracción de colágeno a partir de desechos de cuero.

Método Ácido

Se realiza con una baja concentración acida, donde son destruidos enlaces salinos y bases, causando que las fibras de colágeno no se expandan ni se disuelvan.

El ácido usado como solventes, principalmente ácido clorhídrico o ácido sulfuroso, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y el ácido fórmico, ácido acético, ácido cítrico y así sucesivamente.

En el proceso de extracción actual, se combinan los métodos a menudo para conseguir mejores resultados de extracción.

- **Hidrólisis Enzimática**

Se utilizan enzimas diseñadas para romper ciertos enlaces específicos de la molécula, estas son: pepsina o tripsina, generando un colágeno hidrolizado sin restos de sustancias derivadas de la hidrólisis (sales) y de menor peso molecular que los anteriores, sin generar compuestos que afecten el color, sabor y olor de las soluciones.

Es uno de los mejores métodos de extracción, ya que la enzima tiene una mejor selectividad de reacción y degrada menos a la proteína: el producto restante tiene una alta pureza y sus propiedades tanto físicas como químicas son estables y no producen ninguna contaminación.

En función a los métodos de obtención, el que ofrece mejores ventajas desde el punto de vista técnico, es el método enzimático, no obstante, presenta serias dificultades en cuanto al elevado costo y la dificultad de adquirir las enzimas. El segundo método de importancia y que presenta también buenas ventajas técnicas, es el método químico; asimismo este método ofrece ventajas adicionales, tales como menor costo y fácil adquisición de insumos. Por lo cual tomando en cuenta estos aspectos, se decidió obtener el colágeno a partir de hidrólisis química.

1.10 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACION CUALITATIVA DE COLAGENO HIDROLIZADO

Debido a la presencia de diferentes aminoácidos en las uniones peptídicas las proteínas reaccionan con una variedad de compuestos formando productos coloreados.

Existen reacciones de coloración que son específicas para aminoácidos de esas proteínas y son importantes tanto para la detección como para el dopaje de aminoácidos y proteínas.

Existen también reacciones generales porque sirven para caracterizar grupos comunes a todas las proteínas como grupos amino o uniones peptídicas (biuret y ninhidrina).

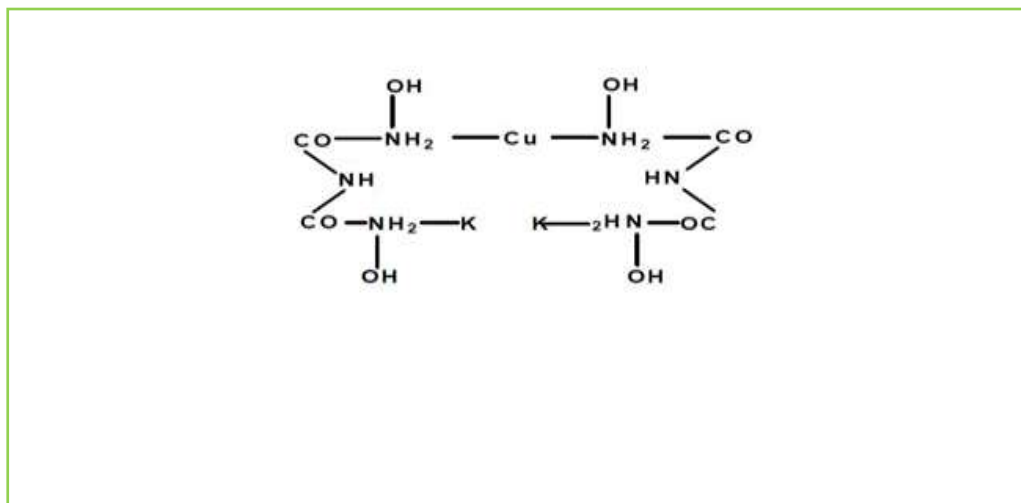
1.10.1 Pruebas Cualitativas para la determinación de Colágeno.

- **Prueba de Biuret**

Es característica para aquellos compuestos que poseen dos o más enlaces peptídicos. La denominación “Biuret” es aquel que detecta la presencia de proteínas, péptidos cortos y otros compuestos con dos o más enlaces peptídicos en sustancias de composición desconocida. El reactivo, de color azul, cambia a violeta en presencia de proteínas. La reacción de Biuret se basa en las formaciones en medio alcalino, de un complejo de coordinación de color violeta entre el ion cúprico (Cu^{+2}) y 4 átomos de hidrogeno, provenientes de las cadenas peptídicas. (Ver Figura 1.13)

FIGURA 1.13

COMPLEJO DE COBRE CONTENIDO EN LA REACCIÓN DE BIURET



Fuente: Bioforo. Pruebas de química Orgánica

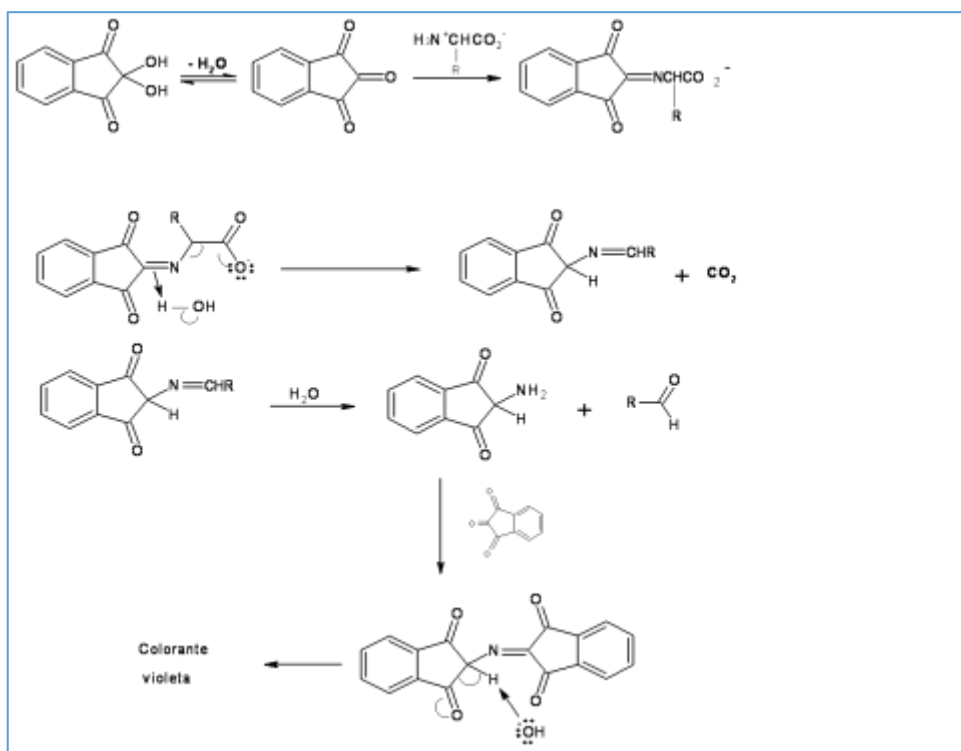
- **Prueba de Ninhidrina**

Esta es una reacción general para cualquier aminoácido y es debido a la presencia del grupo amino (NH_2) de manera de que todos los alfa aminoácidos y por supuesto las proteínas dan positiva a esta reacción. No obstante, cualquier sustancia proteica que contenga un grupo alfa (NH_2) también da positiva a esta reacción, la reacción se efectúa en tres etapas como se muestra en la Figura 1.14.

La ninhidrina a pH entre 4 y 8 es un oxidante muy fuerte y siempre reacciona con los grupos de α -amino liberando amonio, el cual se condensa con la ninhidrina reducida y con otra molécula de ninhidrina formando un compuesto coloreado que varía de azul a violeta púrpura.

FIGURA 1.14

REACCIÓN DE LA PRUEBA DE NINHIDRINA



Fuente: Bioforo. Pruebas de química Orgánica

CAPÍTULO II

2 DESCRIPCION DEL MÉTODO DE INVESTIGACION

La utilización de huesos de llama a nivel nacional, actualmente no cuenta con un aprovechamiento que genere un valor agregado, razón por la cual se plantea la presente investigación como una alternativa para generar una posible vía económica, al mismo tiempo reducir danos ambientales que se llega a producir por el desecho de los mismos. Al contar en su composición con importantes cantidades de proteínas en especial colágeno, es que se plantea la utilización del mismo como materia prima para la obtención de colágeno, además es una opción saludable en el consumo humano; dándole a este proyecto investigativo un carácter no solo económico sino también contribuyendo en la reducción del impacto ambiental que generan estos desperdicios.

Para el desarrollo del proyecto, la parte experimental comprende de tres partes, la primera consiste en la pre-selección de la materia prima, en la que por medio de pruebas preliminares se concluirá cual es la parte de la llama más apta para poder iniciar con la obtención de Colágeno. Para ello, se utilizan diferentes métodos para el descarte total de los huesos, así también se evaluó el proceso de trituración y el tipo de hueso de las diferentes partes de la llama.

La segunda parte comprende el desarrollo de la extracción del colágeno, se describirá paso a paso el procedimiento del ensayo a seguir y la tercera parte percibe el desarrollo del diseño experimental donde se manejan las variables manipulables y variable fija del proceso para la elaboración de colágeno hidrolizado.

2.1 PROCESO DE ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA

Recolección de la pre- materia prima

Se recolectaron los huesos de llama de la fábrica de embutidos Hesse, estos eran recolectados previo descarte, ya que para la producción de embutidos es necesario sacar el mayor contenido de carne que se encuentra adherida a los huesos.

Transporte

Los huesos fueron transportados a los predios del laboratorio de Química dependiente de la Facultad de Ciencias y Tecnología; ubicado en las instalaciones del campus universitario de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho (UAJMS).

Para el acondicionamiento de la materia prima, es necesario realizar diferentes análisis, descritos a continuación.

Selección pre- materia prima

La selección de la materia prima (huesos) se basa en la comparación de distintas partes del esqueleto animal para las etapas en el acondicionamiento de la materia prima.

Tabla II-1

14 SELECCIÓN DEL TIPO DE HUESO

Tipo de Hueso	Ventajas	Desventajas
Extremidades delanteras	Estructura favorable para el descarnado. Bajo contenido de grasa. Mayor rendimiento. No posee cartilago	Tamaño de hueso. Mayor dureza.
Extremidades traseras	Estructura favorable para el descarnado. Bajo contenido de grasa. Mayor rendimiento. No posee cartilago	Tamaño de hueso. Mayor dureza.
Columna Vertebral	Huesos más pequeños. Menor dureza.	Descarne dificultoso. Alto contenido de grasa. Posee cartílago.

Fuente: Elaboración Propia

Selección del tipo de descarne

La segunda parte comprende la selección apropiada para el descarne de los huesos, los cuales se trataron en tres alternativas;

Soda Caustica

Para el desarrollo del descarne por medio de este método, ha sido muy importante tomar en cuenta el tiempo en el que se encontraran sumergidos los huesos en la solución y también otro factor a tomar en cuenta es la concentración de NaOH a los que se van a someter.

Para la selección correcta de concentración y tiempo, se procedió a sumergir los huesos en tres diferentes concentraciones de soda caustica al 5%, 10% y 15% respectivamente. Para la selección de los tiempos se eligió entre cuatro y seis horas.

Foto 2.1. Descarne con Soda Caustica



Fuente: Elaboración Propia

Descarnado con Hormigas

Para el proceso de descarnado natural, lo más importante fue el tiempo de descarte; los huesos fueron sometidos a un hormiguero a temperatura ambiente durante una semana en el que los insectos se encargaron del proceso.

Foto 2.2. Descarne con hormigas



Fuente: Elaboración Propia

Descarnado Manual

Para el descarne manual es muy importante ser cuidadoso para no sufrir accidentes con el cuchillo, el tiempo de este tipo de descarne toma entre dos a cuatro horas, el pelado debe ser muy cuidadoso y preciso dejando en lo posible al hueso completamente limpio o con mínimas proporciones de carne en él.

Foto 2.3. Descarne manual



Fuente: Elaboración Propia

En base a estos parámetros y después de una evaluación entre las ventajas y desventajas del tipo de hueso, la evaluación y previo análisis en el descarne de los huesos, es que para la realización del proyecto se determinó usar las extremidades traseras y delanteras del animal, además se tomó en cuenta el tiempo de descarne. Ver tabla II-1 y

tabla II-2

Tabla II-2**15 SELECCIÓN DE DESCARNE**

Tipo de Descarne	Tiempo	Hueso	Aspecto
Soda Caustica	4-6 hrs.	Columna/ extremidades traseras y delanteras	Viscoso, no en buen estado con residuo cárnico
Descarnado con Hormigas	1 semana	Columna/ extremidades traseras y delanteras	Color amarillo pálido, buen estado con poco residuo cárnico
Descarnado Manual	2-4 hrs	Columna/ extremidades traseras y delanteras	Color blanco, buen estado con poco residuo cárnico

Fuente: Elaboración Propia

2.2 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Para la presente investigación se utilizaron huesos de llama entre dos a tres años, provenientes del municipio de Yunchará, así también fueron proporcionadas por la fábrica de embutidos Hessen, ubicado en la provincia Cercado de la ciudad de Tarija.

Para caracterizar la materia prima se determinan parámetros físico-químicos como ser:

Proteínas

Humedad

Grasas

Cenizas

La determinación de estos parámetros se llevó a cabo por mi persona en las instalaciones del Laboratorio de Química, ya que cuenta con todos los equipos y reactivos necesarios para la determinación de los mismos, paralelamente también se realizaron dichos análisis en el CEANID (Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo).

Las técnicas de los parámetros realizados en el Laboratorio de Química se encuentran en el ANEXO B

2.3 CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO TERMINADO

Para caracterizar el producto terminado se determinan parámetros físico-químicos como ser:

Proteínas

Humedad

Grasas

Cenizas

La determinación de estos parámetros se llevó a cabo en las instalaciones del CEANID (Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo).

Habiendo recurrido a diferentes Laboratorios e instituciones para la realización de un *análisis cuantitativo* y no logrando encontrar alguno que cuente con la técnica correspondiente para el mismo, es que se determina realizar este punto de manera *cualitativa*.

2.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

En el diseño experimental se manejan las variables manipulables y variable fija del proceso para la obtención de colágeno.

El diseño experimental del presente estudio es realizado en el tiempo en el que se lleva a cabo la reacción y la temperatura a la cual se realiza la extracción.

Estas dos variables son analizadas en la hidrolisis acida del proceso de extracción, ya que es la última etapa de donde se obtiene el colágeno hidrolizado.

Para el desarrollo de la presente investigación se plantea un diseño factorial de 2^K , donde 2 son los niveles y 2 factores. Se repite la experiencia dos veces para tener resultados significativos y validados.

2.4.1 Variables

De los parámetros a evaluar, las variables manipulables son:

Temperatura

La temperatura, es una variable que permite conocer el rendimiento de colágeno extraído a diferentes temperaturas, con el fin de determinar la temperatura óptima

Tiempo de reposo

La variable tiempo relaciona la cantidad de colágeno extraído a diferentes intervalos de tiempo de tal manera que se optimice las horas de trabajo.

Según bibliografía a mayor tiempo, mayor cantidad de colágeno obtenido, es por eso que se va a probar distintos tiempos de reposo para comprobar si existe mayor extracción del producto.

2.4.2 Niveles

TABLA II-3

16 NIVELES DE LAS VARIABLES

Nivel	Temperatura °C	Tiempo Hrs
1	10	8
2	25	12

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla II-4 se muestra la codificación de las variables de 2 niveles a realizar para cada una de las muestras.

TABLA II-4

17 CODIFICACIÓN DE LAS VARIABLES

Nivel	Temperatura °C	Tiempo Hrs
1	-1	-1
2	+1	+1

Fuente: Elaboración Propia

2.4.3 Número de combinaciones

Al ser el diseño factorial:

$$2^k$$

El número de experiencias es: $2^2 = 4$

Considerando dos réplicas:

Número de experimentos: $2^2 * 2 = 8$ experimentos

En la tabla II-5 se muestran las combinaciones de las variables de 2 niveles a realizar para cada una de las muestras.

TABLA II-5

18 COMBINACION DE LAS VARIABLES PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN

N° pruebas	t_{ij}	T_{ij}	Respuesta Final
1	-1	-1	$t_{11}T_{11}$
2	-1	+1	$t_{21}T_{11}$
3	+1	-1	$t_{11}T_{21}$
4	+1	+1	$t_{21}T_{21}$
5	-1	-1	$t_{12}T_{12}$
6	-1	+1	$t_{22}T_{12}$
7	+1	-1	$t_{12}T_{22}$
8	+1	+1	$t_{22}T_{22}$

Fuente: Elaboración Propia

Dónde:

$i = \text{nivel}$

j = repetición

T = temperatura

t = tiempo

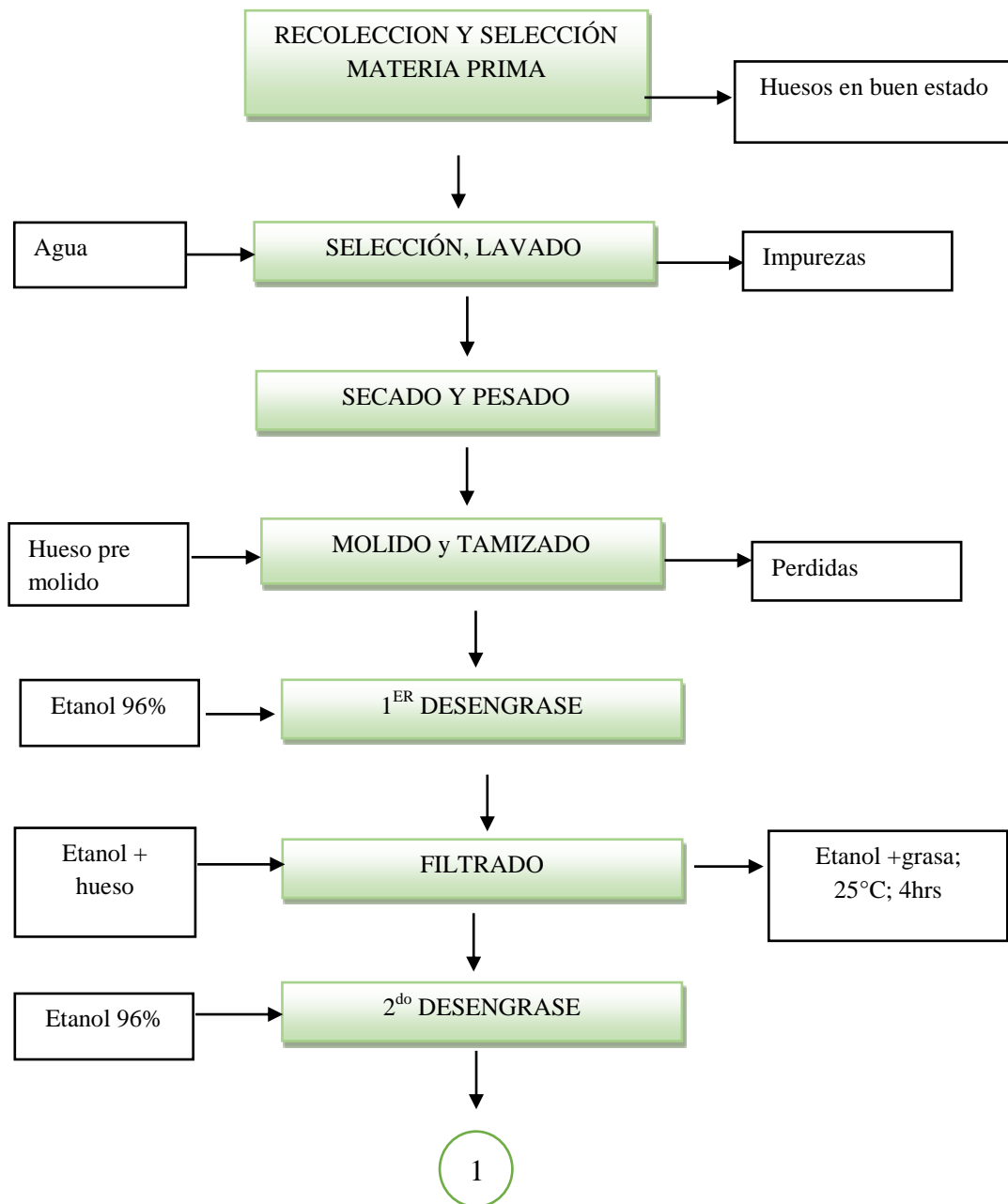
2.4.4 Variable Respuesta

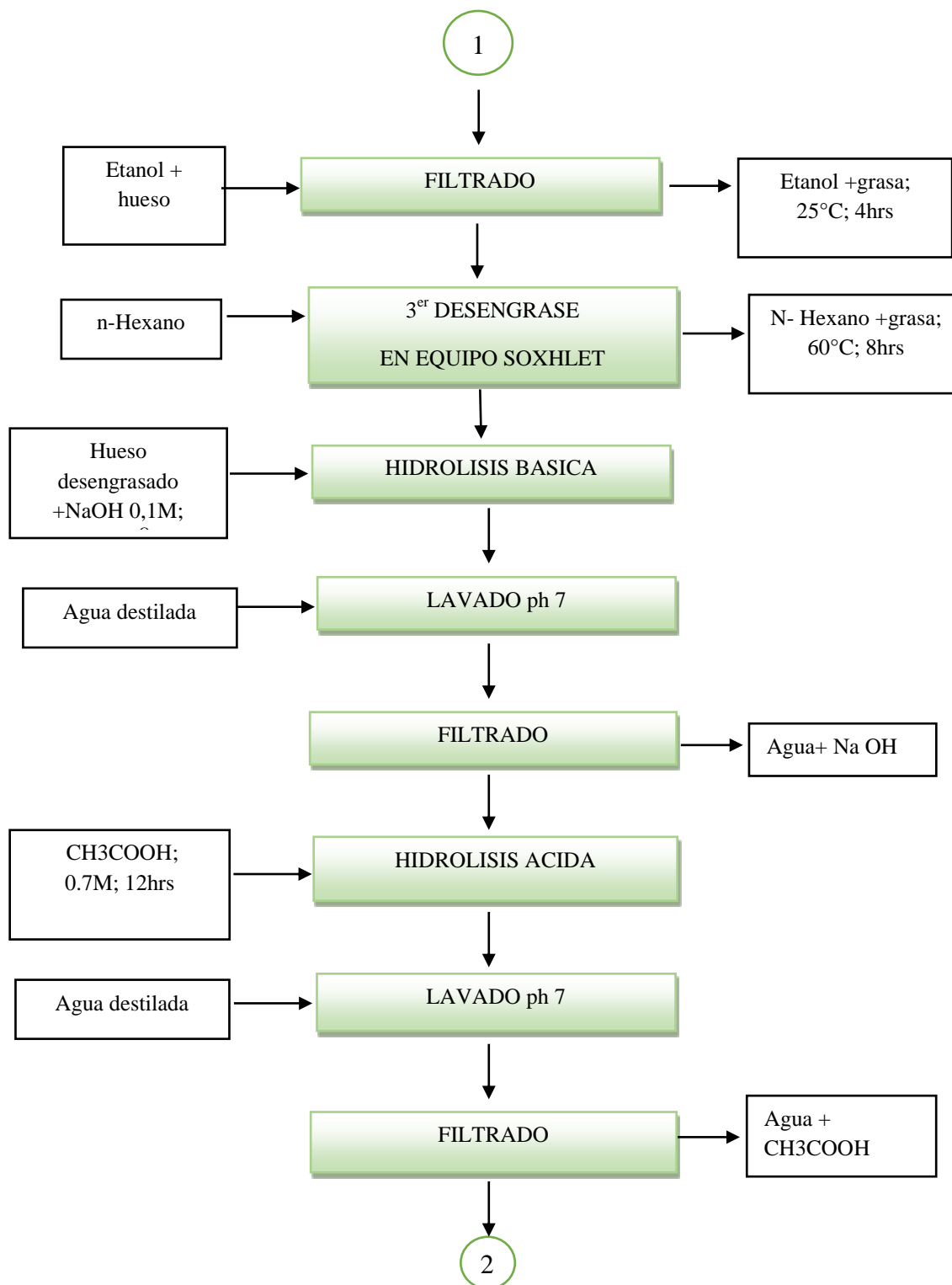
La variable respuesta es la cantidad de colágeno extraído por gr de hueso, expresado en mg/g.

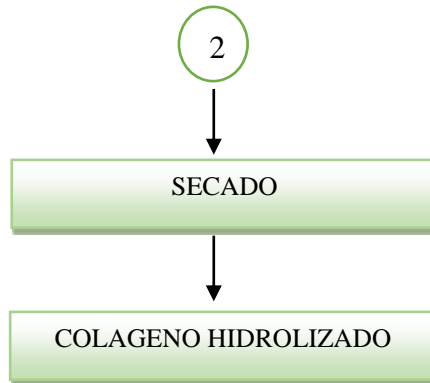
2.5 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE OBTENCION DE COLÁGENO HIDROLIZADO

Para la producción de Colágeno Hidrolizado y evaluación de la influencia de los distintos factores, se realizó el procedimiento que se describe en el Diagrama 2.1

Diagrama 2.1: Diagrama de Bloques del Proceso de Extracción de Colágeno Hidrolizado







Fuente: Elaboración propia.

2.5.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Para el proceso de obtención de colágeno hidrolizado, se partió del hueso como la materia prima que son utilizados como residuos del camélido, en la producción de charque y embutidos.

Recolección de la materia prima

El proceso productivo comienza con la recolección de la materia prima, seleccionando solo las extremidades delanteras y traseras del animal (patas de llama), ya que tomando en cuenta la conclusión en el proceso de acondicionamiento de la materia prima, las extremidades delanteras y traseras del animal presentan una estructura favorable para el descarnado, bajo contenido de grasa, un mayor rendimiento y además no posee cartílago.

Descarne y lavado

Los restos de carne que se encuentran en el hueso son quitados del mismo con un cuchillo, teniendo mucho cuidado al hacerlo para evitar cortes.

El lavado se efectúa con abundante agua, y se retira todos los residuos existentes, como trozos de carne y tejidos blandos.

Foto 2.4. Restos de carne que son quitados manualmente.



Fuente: Elaboración Propia

Secado y pesado

Para pesar las muestras se utilizó una balanza analítica digital marca Europe que se encuentra en el Laboratorio de Química (ver foto 2.5)

Para el secado de los huesos es necesario dejarlos expuestos de tres a cinco días a temperatura ambiente. La temperatura a la cual se realiza la etapa de secado es un factor importante debido a que la exposición de los huesos a altas temperaturas produce el rompimiento de cadenas en los aminoácidos presentes en ellos desencadenando en una desnaturalización del producto, razón por la cual se realiza el secado a 25⁰C.

Una vez que el tiempo de secado concluye, se procede al pesaje de la muestra.

Foto 2.5. Huesos pesados antes de la Molienda



Fuente: Elaboración Propia

Pre-molienda y Molienda

Pre- Molienda

Al culminar el tiempo de secado los huesos son pre-triturados manualmente con un mazo, esto para facilitar el ingreso al molino de martillos, ya que las extremidades del animal son muy largas.

Foto 2.6 Huesos pre-triturados



Fuente: Elaboración Propia

Molienda

Los huesos son triturados a un tamaño aproximado 0,5 mm durante el lapso de una hora, mientras más pequeño sea el triturado, existirá mayor área de contacto con los reactivos, acortando también el tiempo de exposición a la reacción acida, durante el proceso de desmineralización. (Huanca Maria Tatiana)

Foto 2.7 Molido de los huesos



Fuente: Elaboración Propia

Tamizado

Para la realización del tamizado se hizo uso de un tamiz vibratorio marca Orto Alresa, que consta de 1 juego de tamices de 5; 4; 2; 1; 0.5; 0.25; 0.063 mm. Norma española (UNE) y 1 bandeja de recepción de la muestra, es un equipo de gran estabilidad que no requiere ser sujetado a la mesa de trabajo y es de fácil manejo.

Una vez realizada la molienda se procede a tamizar la muestra, para este proceso se utiliza tamiz N° 0,5mm durante 5 min.

El número de tamiz es seleccionado con la finalidad de incrementar la superficie de contacto entre partículas y favorecer al rendimiento en esta etapa.

Fotografía 2.8 Tamizado de los huesos



Fuente: Elaboración Propia

Desengrase

Selección del tipo de solvente para el desengrase

Se evalúan dos tipos de solventes (etanol comercial y n-Hexano), en los cuales se valoran cualitativamente eficiencias de extracción y en base a ellos se elige el solvente más adecuado.

El etanol es un ingrediente de gran uso en la industria de alimentos principalmente empleado como agente de sabor y vehículo de sustancias.

Existen diferentes grados de pureza del etanol. El principal uso que se le da a este ingrediente es como solvente o sustancia acarreadora. Esto se debe a que el Etanol es capaz de disolver aceites manteniendo un sistema soluble en agua. Esta propiedad le

permite ser un vehículo para sabores, colores y otros aditivos evitando la separación en fases de los productos. (hablemos claro. Etanol).

Para determinar el solvente adecuado se considera el solvente con mayor capacidad de extracción. En la tabla II-6 se describen las ventajas y desventajas.

TABLA II-6

19 SELECCIÓN DEL TIPO DE SOLVENTE

Tipo de Solvente	Ventajas	Desventajas
n-Hexano	<ul style="list-style-type: none"> *Extrae mayor cantidad de grasa contenida en el hueso. *Sustancia fácil de volatilizar 	<ul style="list-style-type: none"> *Sustancia controlada comercialmente. *Mayor precio de comercialización con respecto al etanol. *Tóxica con el medio ambiente.
Etanol Comercial	<ul style="list-style-type: none"> *Solvente económico con respecto al n-Hexano. *Sustancia no controlada comercialmente. 	<ul style="list-style-type: none"> * Su poder de desengrase es mínimo a comparación del n-Hexano.

Fuente: Elaboración Propia

Por cuanto se refiere a pruebas efectuadas en laboratorio, se elige el solvente que proporciona un mayor desengrase, basando dicha selección en un nivel comparativo de cada solvente sometido a condiciones igualitarias de tiempo de tratamiento para la materia prima. De esta manera se elige al n-Hexano como solvente para realizar la extracción correspondiente durante el proceso de desengrase.

Aunque el n-Hexano haya sido el elegido como mejor solvente para el desengrase de huesos, también se llegó a realizar dos lavados en alcohol y uno en n-Hexano, esto con el objetivo de abaratar costos, además de que el hexano es una sustancia controlada y por lo tanto es muy difícil de conseguir, ya que se necesita los permisos correspondientes para su comercialización y uso. VER ANEXO D

1^{er} Desengrase con etanol

En esta etapa, se procede a la inmersión del hueso ya molido en etanol al 96%, con agitación constante, utilizando agitador magnético (Ver Foto 2.10)

El tiempo de la agitación de las muestras en etanol es de cuatro horas, según bibliografía.

Foto 2.9. Desengrase de los huesos en etanol al 96%



Fuente: Elaboración Propia

Filtración

Las muestras que salen del agitador son sometidas a un proceso de filtración al vacío (Ver Foto 2.10) y puestas en cajas Petri para su posterior secado.

Foto 2.10. Filtración de los huesos



Fuente: Elaboración Propia

Secado

La parte solida obtenida en la filtración, se somete a un proceso de secado a temperatura ambiente durante 24hrs.

El secado se realiza a temperatura ambiente con la finalidad de evitar el rompimiento de enlaces que forman las moléculas de colágeno.

Foto 2.11. Secado de los huesos



Fuente: Elaboración Propia

2^{do} Desengrase con etanol

Para el segundo desengrase se realiza el mismo procedimiento que el primero, para lo cual se debe colocar las muestras secas nuevamente en el agitador con alcohol nuevo.

3^{er} Desengrase con n-Hexano

Para este último desengrase el equipo soxhlet es el más óptimo, ya que el n- hexano es un compuesto muy volátil y este no permite su posible volatilización.

Las muestras son sometidas a un nuevo desengrase durante 6hrs más con n-hexano como solvente, este proceso hace que la separación de lípidos sea más fácil.

Foto 2.12. Desengrase con el equipo soxhlet.



Fuente: Elaboración Propia

En cada una de las etapas se realizó la “Determinación del contenido de Grasa”. Con la finalidad de comprobar que el porcentaje de grasa disminuye con cada lavado que se realiza a la materia prima.

Extracción del colágeno

En la extracción de la fracción proteica se ha tomado en cuenta los dos tipos de hidrolisis básica e hidrolisis ácido.

Hidrolisis Básica

Se preparó una solución de NaOH 0,1M y se introdujo el producto con agitación constante a 450rpm, durante 8hrs a temperatura ambiente.

Lavado

Pasadas las ocho horas de hidrolisis, se procede a lavados constantes, hasta llegar a un pH=7 en el agua de lavado.

Filtración

Las muestras son filtradas antes de pasar a hidrolisis acida.

Hidrolisis Acida

Una vez filtradas las muestras estas se introducen en una solución de ácido acético (CH_3COOH); 0,7M, a una agitación constante de 450rpm y 12hrs. Posteriormente a la solución acida se le agrega una solución de NaCl al 12%, con el fin de precipitar el colágeno.

El ácido acético es un aditivo utilizado en la industria de alimentos por su capacidad para regular la acidez y sus propiedades como conservador. Como conservador ayuda a prolongar la vida útil de los productos al protegerlos del deterioro causado por microorganismos, además otorga características acidas ligeramente pungentes a los productos.

La concentración en la que generalmente se encuentra el vinagre que se usa en la cocina va de 4 a 8% peso/peso y para aplicaciones industriales se emplea en mayor concentración.

Para esta sustancia la Ingestión Diaria Aceptable (IDA) por el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios de la FAO/OMS (JECFA) es considerada como “aceptable” ya que uso no implica un riesgo de seguridad alimentaria.

Lavado

Nuevamente las muestras son sometidas a lavados constantes hasta llegar a un pH=7 en el agua de lavado.

Secado

El proceso de secado es realizado una vez que se tienen las proteínas recuperadas, este proceso será realizado en el secador durante aproximadamente cuatro días.

2.5.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN

2.5.2.1 Hidrolisis Básica

Agitación

Se utiliza 100 gramos de hueso, previo molido y desengrase, y se mezcla con Hidróxido de Sodio (NaOH) 0,1M con relación 1:10 a una temperatura de 25°C y un tiempo de ocho horas con agitación constante. (Huanca Maria Tatiana).

El proceso facilita la hidrolisis de la grasa restante y además ayuda a la desnaturalización del colágeno, eliminando proteínas distintas al colágeno y que pueden llegar a convertirse en contaminantes en el producto final.

Luego del hidrolisis los aminoácidos y péptidos más pequeños se liberan al medio acuoso, pero al ser una base fuerte podría así mismo hidrolizar la molécula de colágeno a pesar de ser una molécula fibrosa y resistente, por esa razón no se recomienda usar altas temperaturas o altas concentraciones de NaOH. (Huanca Maria Tatiana).

Foto 2.13. Proceso de Hidrolisis Básica en el agitador magnético



Fuente: Elaboración propia

Lavado

A continuación, se procedió al lavado de la solución básica, mediante la adición de agua destilada y la eliminación de la fase líquida una vez el residuo sólido, contenedor de la fracción proteica, hubo sedimentado. Este procedimiento se realizó al menos cuatro veces, hasta que el líquido desechado no presentó coloración y se mantuvo en un pH=7.

Filtración

Las muestras son filtradas para dejar solo el residuo sólido antes de pasar a la etapa de hidrólisis ácida.

Foto 2.14. Proceso de filtración al vacío



Fuente: Elaboración propia

2.5.2.2 Hidrolisis Acida

Una vez filtradas las muestras estas se introducen en una solución de ácido acético (CH_3COOH); 0,7M, a una agitación constante de 450rpm a temperatura de 25°C y un tiempo de 12hrs.

El ácido acético es un aditivo utilizado en la industria de alimentos por su capacidad para regular la acidez y sus propiedades como conservador. Como conservador ayuda a prolongar la vida útil de los productos al protegerlos del deterioro causado por microorganismos, además otorga características acidas ligeramente pungentes a los productos.

La concentración en la que generalmente se encuentra el vinagre que se usa en la cocina va de 4 a 8% peso/peso y para aplicaciones industriales se emplea en mayor concentración.

Para esta sustancia la Ingestión Diaria Aceptable (IDA) por el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios de la FAO/OMS (JECFA) es considerada como “aceptable” ya que su uso no implica un riesgo de seguridad alimentaria. (ácido acético. Habla ahora) En esta etapa se produce la desmineralización del hueso y se busca liberar, solubilizar y recuperar en medio ácido el colágeno presente.

El ácido reacciona con el fosfato cálcico y los carbonatos solubilizándolos, permitiendo así la separación de las dos fracciones fundamentales del hueso, la orgánica y la inorgánica. (Padilla Martínez María)

Posteriormente a la solución ácida se le agrega una solución de NaCl al 12%, con el fin de precipitar el colágeno, por la acción que esta sal tiene sobre la fuerza iónica.

Foto 2.15: Proceso de Hidrolisis Acida en el agitador magnético



Fuente: Elaboración propia

Lavado

Nuevamente las muestras son sometidas a lavados constantes en agua destilada hasta llegar a un $\text{pH}=7$ en el agua de lavado.

En este punto del proceso se debe hacer los lavados en una ampolla de decantación para que la pérdida sea mínima.

Foto 2.16. Proceso de lavado en la ampolla de decantación



Fuente: Elaboración propia

Filtración y Solubilización

Nuevamente las muestras son filtradas y una vez eliminada la fase líquida con los contaminantes disueltos, se procedió a la solubilización del colágeno en 250ml de agua acidulada con un $\text{pH}=3$ a 30°C durante 20h y con agitación constante, proceso denominado gelatinización. Para la obtención del agua acidulada, previamente se diluyó un pequeño volumen de HCl 1,5M en agua destilada, y esta solución es la que se fue añadiendo en muy pequeña proporción a los 250ml agua destilada hasta conseguir un $\text{pH}=3$.

Foto 2.17: Filtración y Solubilización de la muestra



Fuente: Elaboración propia

Secado

Seguidamente, tras el residuo insoluble hubo sedimentado, se rescató la fracción líquida (colágeno solubilizado) con una pipeta.

Por último, se procedió a la concentración de la fracción aislada. Para ello se introdujeron las muestras en una estufa a 30°C hasta que el volumen se redujo a 20 ml, momento en que el concentrado se depositó en una placa de Petri de 5,5 mm de diámetro, donde se produjo la cristalización de la muestra a una temperatura de 35°C

El proceso de secado es realizado una vez que se tienen las proteínas recuperadas, este proceso será realizado en el secador durante aproximadamente cuatro días.

Foto 2.18: Muestra Seca



Fuente: Elaboración propia

Una vez pasado el tiempo de secado, el producto obtenido es envasado en frascos de vidrio, conservando las propiedades organolépticas del producto, tales como aroma, textura, sabor y color por más tiempo.

2.6 DISEÑO DEL MOLINO DE MARTILLOS A ESCALA INDUSTRIAL

A continuación, se muestra el procedimiento de cálculo para el diseño de un molino de martillos a escala industrial, para un molino pequeño de 150 kg/h de capacidad, el cual se encuentra dado en 8hrs laborales.

La capacidad propuesta es por la cantidad de hueso que se puede obtener de una llama promedio de 500kg, esto solo tomando en cuenta las extremidades delanteras y traseras del animal, ya que son mucho más fáciles de descarnar y moler.

Se desea diseñar un molino de martillos para la optimización, disminución de costos y una mayor rentabilidad para el molido de huesos en la producción de colágeno.

2.6.1 Cálculo y Diseño de las partes

Capacidad de la molienda

La capacidad de la molienda es el primer parámetro necesario para el diseño de un molino.

$$150 \frac{Kg}{hr} * \frac{1000gr}{1Kg} * \frac{1\text{ pieza}}{0.5gr} * \frac{1hr}{60min} = 5000 \frac{gr}{min}$$

Velocidad Rotacional

Tomando como base la velocidad angular del equipo que se usó para la realización de este proyecto (Optic Ivymen Sistem) es de 4200rpm y como no se desea trabajar al límite de las revoluciones se ha optado por una velocidad promedio de $\omega=1600\text{rpm}$

TABLA II-7

20 PARÁMETROS SEGÚN FABRICANTES

Velocidad del husillo	4200rpm	Fineza del triturado	10-120
Capacidad de producción	10-30 Kg	Ruido del funcionamiento	$\leq 85\text{db}$
Dirección de rotación	Sentido de las agujas del reloj	Tamaño alimentación	8x8x8mm
Potencia Motor	2.2Kw	Dimensiones	400-700-800

Fuente: Manual de instrucciones Optic Ivymen. Lab, de Química

Velocidad Tangencial del extremo del martillo

La velocidad obtenida es la velocidad tangencial del martillo, llamada V_v (velocidad tangencial del martillo sin carga). Conociendo que al aumentar la cantidad del producto o el peso del mismo la velocidad calculada decrece, a esta velocidad se le llamará V_c (velocidad del martillo con carga), donde para su cálculo se considera a los martillos, ejes, discos y demás componentes.

$$v = \sqrt{\frac{m_o * g * h}{0.5m_c}}$$

$$v = \sqrt{\frac{400g * 9.81m/s^2 * 0.25m}{0.5 * 1.5g}}$$

$$v = 36.17m/s$$

Donde:

m_o =masa del objeto

$g= 9.81m/s^2$ (gravedad)

h =altura de la caída libre del objeto

m_c = masa del hueso

Tomando como referencia los datos usados en el proyecto ‘desarrollo, construcción, y pruebas de funcionamiento de un prototipo de molino de martillos para la trituración

de estado seco de cascara de cacao y similares''. Universidad Pontificia Bolivariana escuela de Ingeniería. Facultad de Ingeniería Mecánica Floridablanca.2014

El material utilizado en la prueba es acero inoxidable AISI 304 con una masa de 0,4 kg. La altura inicial fue de 10 cm con un aumento de 5 cm en cada prueba, se evidencio la ruptura de la cascara a partir de los 25 cm por lo cual fue el valor utilizado en el cálculo de la energía requerida.

Velocidad Tangencial Final

$$v = -Vv \frac{Cs - 2}{Cs + 2}$$

Donde Cs para molinos harineros es de 0.020³⁰

$$v = -(36.17m/s) * \frac{0.02 - 2}{0.02 + 2}$$

$$v = 35.45 \frac{m}{s}$$

Radio de giro

El radio de giro máximo r_g , proporciona un estimado de las dimensiones de las cámaras de triturado.

$$rg = \frac{v * 60}{2 * \pi * r}$$

$$rg = \frac{35.45 * 60}{2 * \pi * 1600rpm}$$

$$rg = 0.21m$$

TABLA II-8**21 DATOS DEL DISEÑO DE UN MOLINO DE MARTILLOS**

Parámetros	Resultado
Masa del martillo; M_m	0.0927Kg
Fuerza de la centrífuga; $F_{centrifuga}$	364.33N
Fuerza de Corte; F_{corte}	376.38N
Ancho del martillo; α	3.3cm
Esfuerzo Cortante; τ	9.410Mpa
Esfuerzo Normal; σ	2.352Mpa
Espesor del soporte de los anillos	1.36mm
Esfuerzo mínimo; R	2428.9 N
Diámetro de los pernos; D	7/8 pulg.
Masa molar; m	0.42Kg/s
Densidad; ρ	1.98Kg/m ³
Area de ingreso a la tolva; A_{in}	0.0416m ²

Fuente: Proyecto "desarrollo, construcción, y pruebas de funcionamiento de un prototipo de molino de martillos para la trituración de estado seco de cascara de cacao y similares". Universidad Pontificia Bolivariana escuela de Ingeniería. Facultad de Ingeniería Mecánica Floridablanca.2014.

Cálculo de la potencia necesaria

$$Pot_T = Pot_{TR} + Pot_I$$

Donde:

Pot_{TR} = Potencia de triturado

Pot_I = Potencia de inercia

Potencia de triturado. Es la energía por unidad de tiempo necesaria para cumplir con la capacidad de trabajo a triturar, donde se tiene:

Potencia de triturado

$$Pot_{TR} = T * \omega$$

Donde la velocidad angular ω se da en rad/s y el torque T se define así:

Torque de triturado

$$T = F_T * r_g$$

Donde:

F_t = Fuerza Total

La fuerza total de triturado en una vuelta, es el producto de la fuerza necesaria para triturar por impacto una partícula, y el número de estas que harán contacto con los martillos:

Fuerza de triturado

$$F_T = F_i * N_p$$

Para la reducción de tamaño de alimentos se utilizan tres tipos de fuerza: Fuerzas de compresión, fuerzas de impacto y fuerzas de cizalladura.

En la mayoría de la maquinaria de reducción de tamaño se hace uso de estos tres tipos de fuerza, pero por lo general, uno de ellos suele ser más importante que los otros dos para el proceso en cuestión.

Siguiendo la recomendación de las características y usos de maquinaria empleada en la reducción de tamaño, el tipo de fuerza más influyente en este diseño es debido al impacto. En consecuencia, el cálculo para el triturado de una partícula se define como:

Fuerza de triturado para una partícula

$$F_i = \frac{m_p(V_2 - V_1)}{t}$$

Donde:

m_p = Masa de la partícula

V_2 = Velocidad tangencial del martillo sin carga

V_1 = Velocidad de ingreso

t = Tiempo de choque

Velocidad de ingreso

$$V_1 = \frac{Q}{A_{in}}$$

Donde el caudal del producto en la entrada Q se define como:

$$Q = \frac{\dot{m} \left[\frac{Kg}{s} \right]}{\rho \left[\frac{Kg}{m^3} \right]}$$

Reemplazando se obtiene:

$$Q = \frac{0.42 \left[\frac{Kg}{s} \right]}{1.98 \left[\frac{Kg}{m^3} \right]} = 0.21 \text{ m}^3/\text{s}$$

El área de ingreso a la tolva está dada por:

$$A_{in} = L_{in} * Ancho_{in} = 0.16m * 0.26m = 0.0416m^2$$

Por consiguiente, la velocidad la velocidad de ingreso V_1 es:

$$V_1 = \frac{0.21 \text{ m}^3/\text{s}}{0.0416 \text{ m}^2} = 5.04 \text{ m/s}$$

Masa de la partícula

$$m_p = \frac{\pi * d^2}{4} * \rho$$

Para la anterior ecuación, el diámetro de la partícula d , utilizado en los cálculos, será de 2 cm, ya que este valor corresponde a la longitud promedio del hueso previamente triturado.

De acuerdo a lo anterior, la masa de la partícula es:

$$m_p = \left(\frac{\pi * (0.02m)^2}{4} \right) * 1.98 \frac{kg}{m^3} = 6.22 * 10^{-4} Kg$$

El tiempo t que estará en contacto el martillo con las partículas de huesos, se describe a continuación.

Tiempo de choque

$$t = \frac{d/r_0}{\omega} = \frac{0.02m/0.185m}{167.55 \text{ rad/seg}} = 6.4523 * 10^{-4} \text{ seg}$$

Por consiguiente, la fuerza de triturado para una partícula será:

$$F_i = \frac{6.22 \cdot 10^{-4} \text{Kg} \cdot (44.3 \frac{m}{s} - 9.231 \cdot 10^{-4} \frac{4m}{s})}{6.4523 \cdot 10^{-4} \text{seg}} = 42.71 \text{ N}$$

Para finalizar con el cálculo de la fuerza de triturado total, es necesario conocer el número de partículas que se molturaran por vuelta, para lo cual se aplicará la siguiente ecuación.

Número de partículas a triturar por vuelta

$$N_p = \frac{m[\frac{Kg}{hr}]}{60 \cdot \omega[\text{rpm}] \cdot mp[\text{Kg}]}$$

$$N_p = \frac{150[\frac{Kg}{hr}]}{60 \cdot 1600 \text{rpm} \cdot 6.22 \cdot 10^{-4} \text{Kg}} = 2.5120 \text{ partículas}$$

A continuación, se reemplazan los valores en la ecuación y se calcula la fuerza de triturado total.

$$F_t = 42.71 \text{ N} \cdot 3.1252 = 133.47 \text{ N}$$

Al reemplazar en la ecuación de torque de triturado se obtiene:

$$T = 133.47 \text{ N} \cdot 0.185 \text{ m} = 24.69 \text{ Nm}$$

Sustituyendo en la ecuación, se tiene que la energía necesaria para el triturado de las partículas, cumpliendo con la capacidad de producción establecida, es:

$$Pot_{TR} = 24.69 \text{ Nm} \cdot 167.55 \text{ rad/seg}$$

$$Pot_{TR} = 4136.8095 \text{ W} = 5.55 \text{ HP}$$

2.7 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

2.7.1. Equipos y Materiales

A continuación, se describen los principales equipos y materiales utilizados en el desarrollo del presente proyecto de investigación.

TABLA II.9

22 EQUIPOS USADOS EN EL PROYECTO

Equipo	Cantidad
Balanza Analítica	1
Congelador	1
Mufla	1
Secador Infrarojo	1
Calentadores	1
Estufa	1

Fuente: Elaboración propia

TABLA II.10

23 MATERIAL USADO EN EL PROYECTO

Material	Especificación	Cantidad
Cuchillo	-	1
Mazo	-	1
Bolsas	Plástico	8
Trapos de Limpieza	-	5
Vaso de Precipitación	150ml	3
Varillas	De vidrio	3
Guantes	Látex	Cant. necesaria
Bañadores	-	3
Crisol	Medianos	2
Desecador	-	1
Pinzas para Mufla	-	1
Cucharilla	Pequeña	1
Refrigerantes	Medianos	2
Balones	250ml	2
Tapones de vidrio esmerilado	-	4
Codos	-	2

Mangueras	-	4
Cartuchos p/extracción	Pequeños	6

Fuente: Elaboración propia

2.7.2. Reactivos

TABLA II.11

24 REACTIVOS USADOS EN EL ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA

Reactivo	Cantidad
Soda Caústica	80ml
Agua Destilada	Cant. necesaria
n- Hexano	250ml

Fuente: Elaboración propia

2.8 METODOLOGIA UTILIZADA PARA LLEGAR AL RESULTADO ESPERADO DE INVESTIGACION.

✓ Pruebas primales

Humedad: Dicho ensayo se realizó en el laboratorio de Químicas de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

Cenizas: Dicho ensayo se realizó en el laboratorio de Químicas de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho y Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo. CEANID

Proteína: El ensayo se realizó en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo. CEANID

Grasas: El ensayo se realizó en el laboratorio de Química de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

- ✓ **Evaluación sensorial para definir el tipo de colágeno que mejores atributos presente.**

La evaluación sensorial de escala hedónica para el colágeno, formada por 15 jueces no entrenados que evaluaron el olor, color, textura y sabor del producto. Tabla II.12

*25 TEST PARA ELEGIR EL PRODUCTO FINAL DE COLAGENO
HIDROLIZADO*

TABLA II.12
TEST PARA ELEGIR EL PRODUCTO FINAL DE COLAGENO
HIDROLIZADO

PRUEBA ORGANOLEPTICA PARA LA ELECCION DEL PRODUCTO						
PUNTAJE	NIVEL DE ACEPTACION					
5	Me gusta mucho					
4	Me gusta moderadamente					
3	Ni me gusta ni me disgusta					
2	Me disgusta moderadamente					
1	Me disgusta mucho					
MUESTRA 1	Atributo	5	4	3	2	1
T=10°C t=8Hrs	Olor					
	Color					
	Textura					
	Sabor					
MUESTRA 2	Atributo	5	4	3	2	1
T=25°C t=12Hrs	Olor					
	Color					
	Textura					
	Sabor					
MUESTRA 3	Atributo	5	4	3	2	1
T=10°C t=12Hrs	Olor					
	Color					
	Textura					
	Sabor					
MUESTRA 4	Atributo	5	4	3	2	1
T=25°C t=8Hrs	Olor					
	Color					
	Textura					
	Sabor					

Fuente: Elaboración propia

2.9 BALANCE DE MATERIA Y ENERGÍA

Para el balance de materia se realiza la extracción a partir de 100 gramos de hueso molido y desengrasado. El proceso de extracción se realiza en las condiciones más óptimas; a una relación de 1:10 soluto: solvente, 12 horas y 25 °C, se selecciona un tiempo de 12 horas ya que se extrae una cantidad mayor de colágeno en estas condiciones.

TABLA II-13

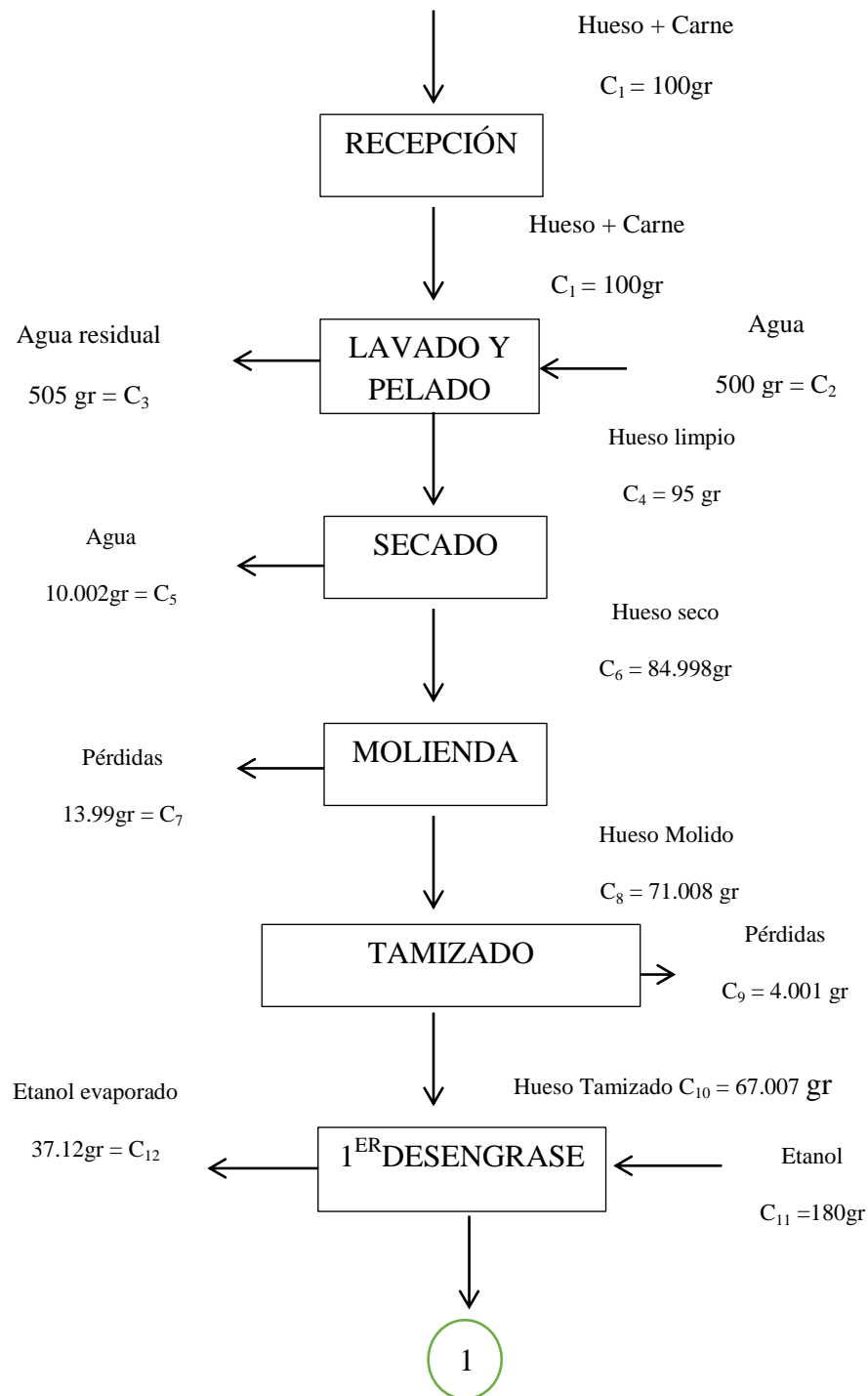
26 DATOS DE PROCESO DE OBTENCIÓN DE COLÁGENO

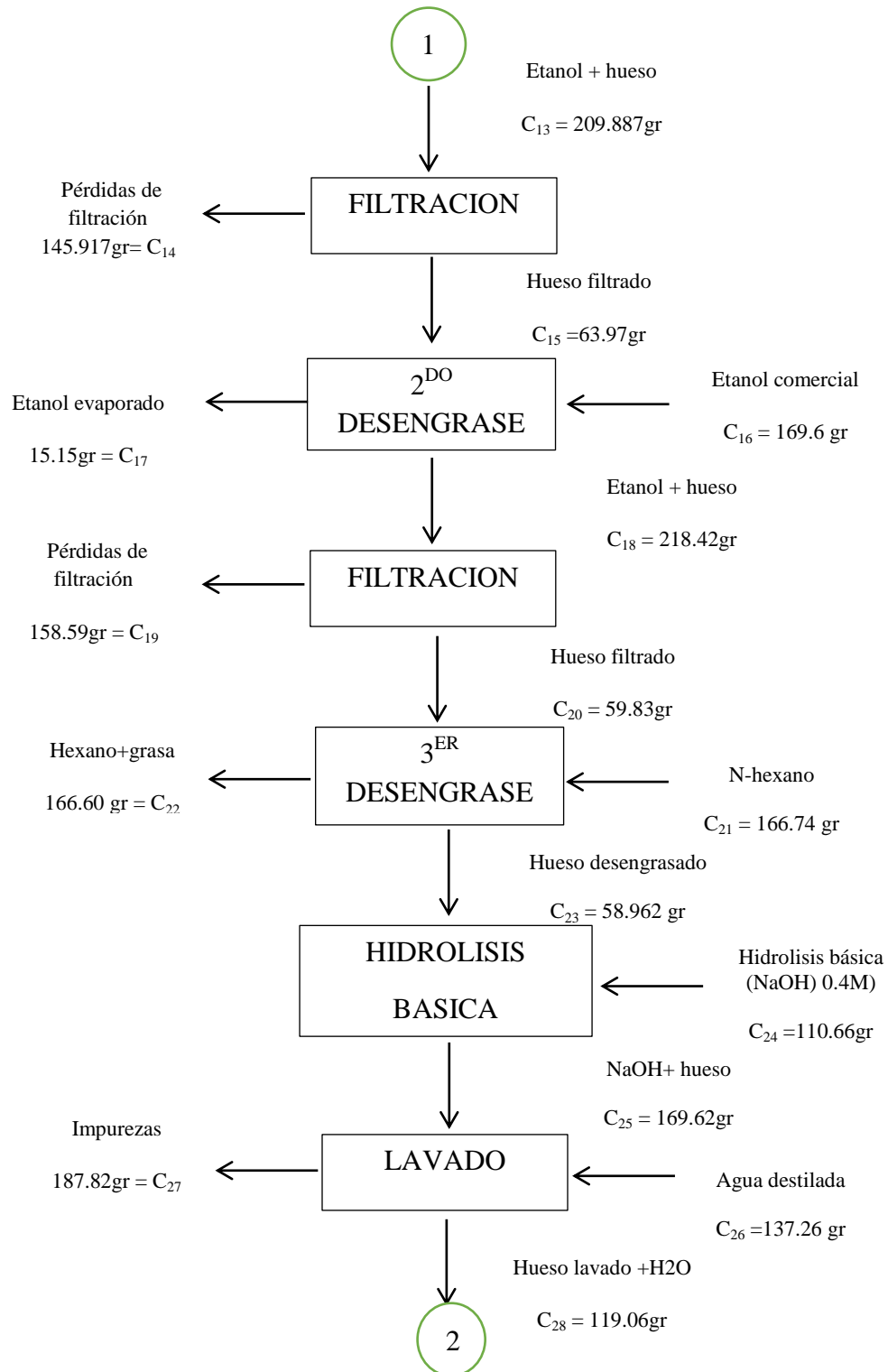
Proceso de extracción	
Hueso molido y desengrasado	29.32 gr
Relación soluto: solvente	1:10
Volumen solvente	200ml
Densidad ácido acético	1.05 gr/ml
Tiempo de extracción	12 hr

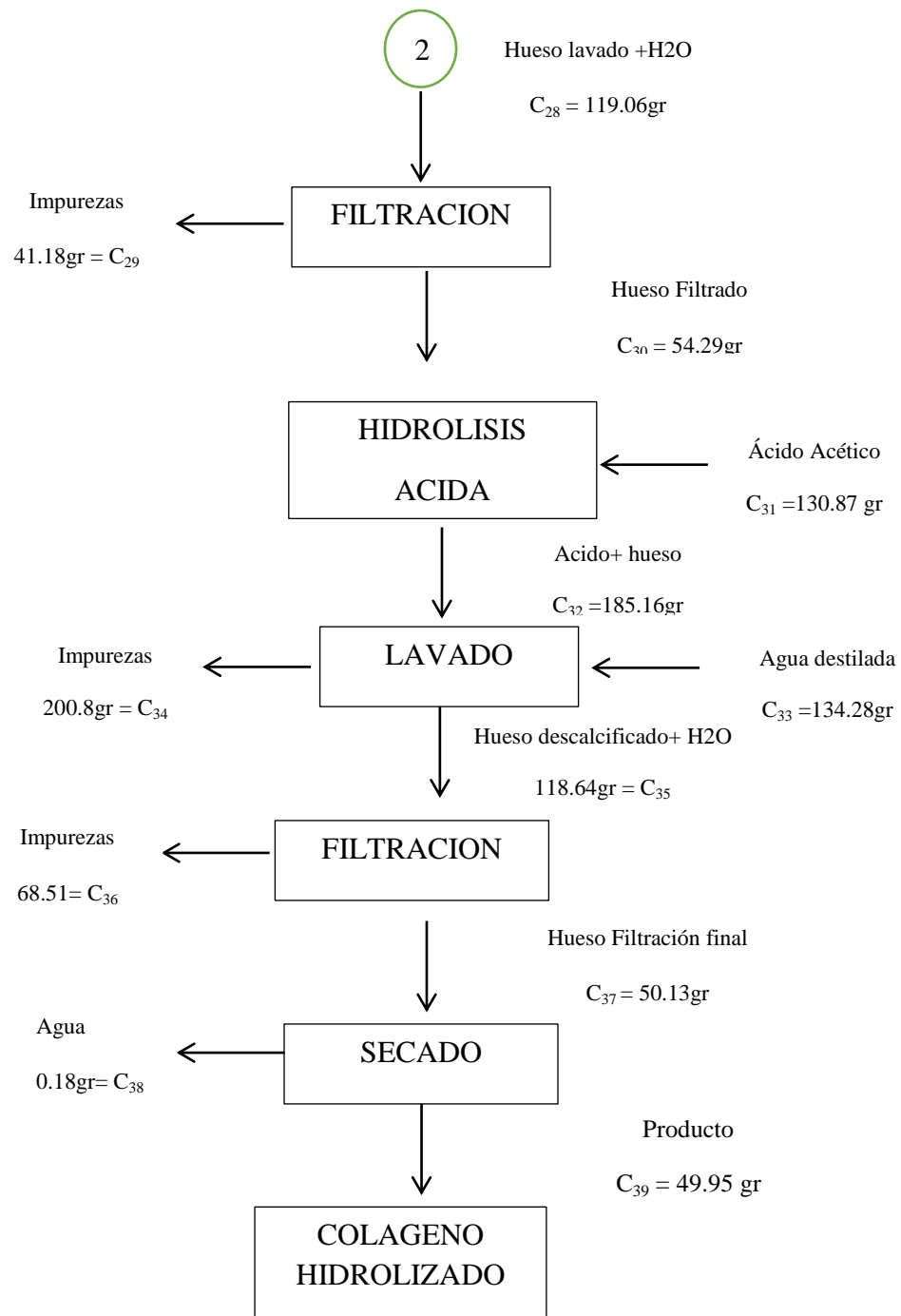
Fuente: Elaboración Propia

2.9.1 Diagrama de Flujo del proceso de Extracción

Diagrama II-2: Flujo del proceso de extracción del colágeno hidrolizado







Fuente: Elaboración Propia

La siguiente tabla muestra las especificaciones de las corrientes del diagrama de flujo.

TABLA II-14

27 CORRIENTES DEL PROCESO

Corriente	Especificación	Corriente	Especificación
C ₁	Hueso + Carne	C ₂₁	N-hexano
C ₂	Agua	C ₂₂	Hexano+ grasa
C ₃	Agua residual	C ₂₃	Hueso desengrasado
C ₄	Hueso limpio	C ₂₄	Hidrolisis básica (NaOH 0.4M)
C ₅	Agua	C ₂₅	NaOH + hueso
C ₆	Hueso seco	C ₂₆	Agua destilada
C ₇	Pérdidas del molido	C ₂₇	Agua residual
C ₈	Hueso molido	C ₂₈	Hueso lavado + H ₂ O
C ₉	Pérdidas de tamizado	C ₂₉	Impurezas
C ₁₀	Hueso tamizado	C ₃₀	Hueso filtrado
C ₁₁	Etanol comercial	C ₃₁	Hidrolisis ácida (Ácido acético)
C ₁₂	Etanol evaporado	C ₃₂	Acido acético + hueso
C ₁₃	Etanol + hueso	C ₃₃	Agua destilada
C ₁₄	Perdidas de filtración	C ₃₄	Agua residual
C ₁₅	Hueso filtrado	C ₃₅	Hueso lavado
C ₁₆	Etanol comercial	C ₃₆	Perdidas de filtración

C ₁₇	Etanol evaporado	C ₃₇	Hueso filtrado
C ₁₈	Etanol + hueso	C ₃₈	Agua
C ₁₉	Perdidas de filtración	C ₃₉	Producto final
C ₂₀	Hueso filtrado		

Fuente: Elaboración Propia

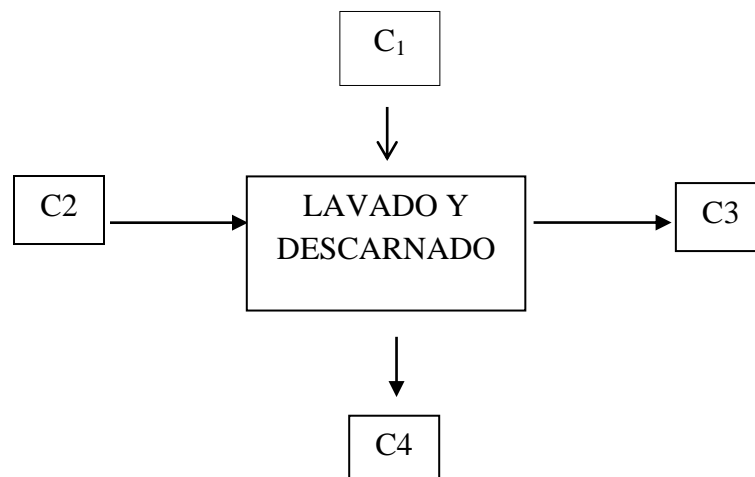
2.9.2 Balance de materia

Se utilizan 100 gr de materia prima para cuantificar rendimientos.

Luego de recepcionar la materia prima se procede al lavado y pelado de esta.

➤ Operación 1. Balance en el descarne y lavado de la materia prima

Los huesos son descarnados y lavados para cuantificar masas de balance.



Donde:

C₁: Hueso + Carne

C₁ = 100 gr

C₂: Agua

C₂ = 500 gr

$$C_3: \text{Agua residual} \quad C_3 = 505\text{gr}$$

$$C_4: \text{Hueso Limpio} \quad C_4 = 95\text{gr}$$

$$C_4 + C_3 = C_1 + C_2$$

$$C_4 = C_1 + C_2 - C_3 = 100\text{ gr} + 500\text{ gr} - 505\text{gr}$$

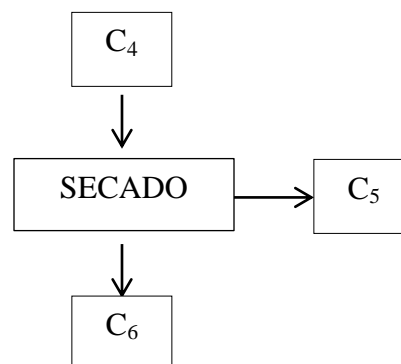
$$C_4 = 95\text{gr}$$

$$M_{\text{impurezas}} = C_1 - C_4 = 100\text{gr} - 95\text{gr} = 5\text{ gr}$$

$$\%_{\text{imp}} = \frac{m_{\text{imp}}}{C_4} \times 100\% = \frac{5\text{gr}}{95\text{ gr}} \times 100\% = 5.26\%$$

➤ **Operación 2. Balance en la etapa de secado de la materia prima**

En esta etapa el hueso es secado al ambiente



Donde:

$$C_4: \text{Hueso limpio} \quad C_4 = 95\text{ gr}$$

$$C_5: \text{Agua} \quad C_6 = 84.998\text{gr}$$

C_6 : Hueso seco

$$C_5 = 10.002 \text{ gr}$$

$$C_4 = C_5 + C_6$$

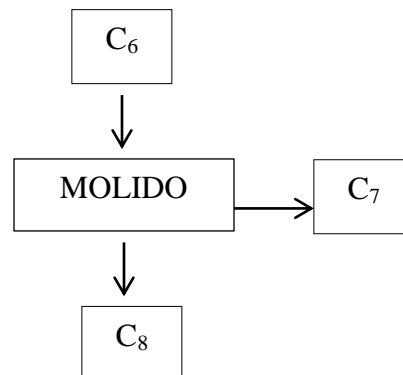
$$C_5 = C_4 - C_6$$

$$C_5 = 95 \text{ gr} - 84.998 \text{ gr}$$

$$C_5 = 10.002 \text{ gr}$$

➤ **Operación 3. Balance en la etapa de molienda en la materia prima**

En esta etapa, entra el hueso seco a la molienda, donde existen pérdidas al momento de la molienda y sale hueso ya molido.



Donde:

C_6 : Hueso Seco

$$C_6 = 84.998 \text{ gr}$$

C_7 : Pérdidas

$$C_8 = 71.008 \text{ gr}$$

C_8 : Hueso Molido

$$C_7 =$$

$$C_6 = C_7 + C_8$$

$$C_7 = C_6 - C_8$$

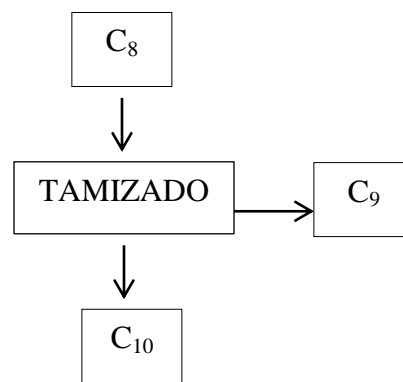
$$C_7 = 84.998 \text{ gr} - 71.008 \text{ gr}$$

$$C_7 = 13.99\text{gr}$$

$$\%_{rend\ del\ molido} = \frac{C_8}{C_6} \times 100 = \frac{71.008\text{gr}}{84.998\text{gr}} \times 100\% = 83.5\%$$

➤ **Operación 4. Balance en la etapa de tamizado de la materia prima**

Una vez que el hueso esta molido, pasa a un proceso de tamizado a 0.5mm de diametro, donde también existen pérdidas.



Donde:

$$C_8: \text{Hueso Molido} \quad C_8 = 71.008 \text{ gr}$$

$$C_9: \text{Perdidas} \quad C_{10} = 67.007\text{gr}$$

$$C_{10}: \text{Hueso Tamizado}$$

$$C_8 = C_9 + C_{10}$$

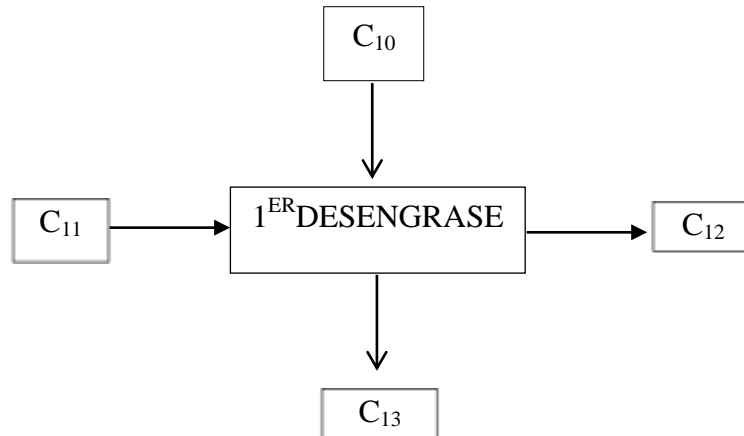
$$C_9 = C_8 - C_{10}$$

$$C_9 = 71.008 \text{ gr} - 67.007\text{gr}$$

$$C_9 = 4.001\text{gr}$$

➤ **Operación 5. Balance en la etapa de 1^{er} desengrase en la materia prima**

En la etapa de desengrase, el hueso pasa a un vaso de precipitación, en el que se agrega etanol al 96%, donde una porción de este evapora quedando hueso + etanol.



Donde:

C_{10} : Hueso Tamizado $C_{10} = 67.007\text{gr}$

C_{11} : Etanol comercial $C_{11} = 180\text{gr}$

C_{12} : Etanol evaporado $C_{13} = 209.887\text{gr}$

C_{13} : Etanol+hueso

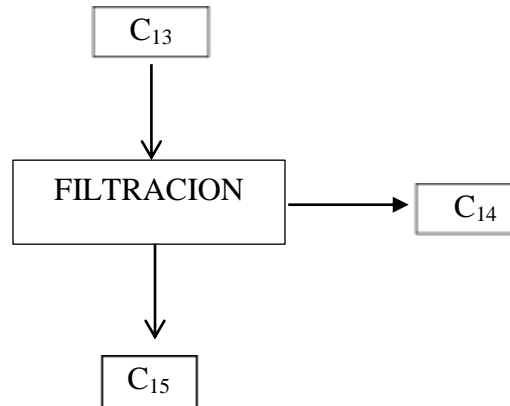
$$C_{10} + C_{11} = C_{12} + C_{13}$$

$$C_{12} = C_{10} + C_{11} - C_{13} = 67.007\text{gr} + 180\text{gr} - 209.887\text{gr}$$

$$C_{12} = 37.12\text{gr}$$

➤ **Operación 6. Balance en la etapa de filtración de la materia prima**

Etanol + hueso ingresa a un embudo de filtración, donde por el tamaño del papel existen pérdidas.



Donde:

C_{13} : Etanol + hueso $C_{13} = 209.887 \text{ gr}$

C_{14} : Pérdidas de filtración+ alcohol $C_{15} = 63.97\text{gr}$

C_{15} : Hueso filtrado

$$C_{13} = C_{14} + C_{15}$$

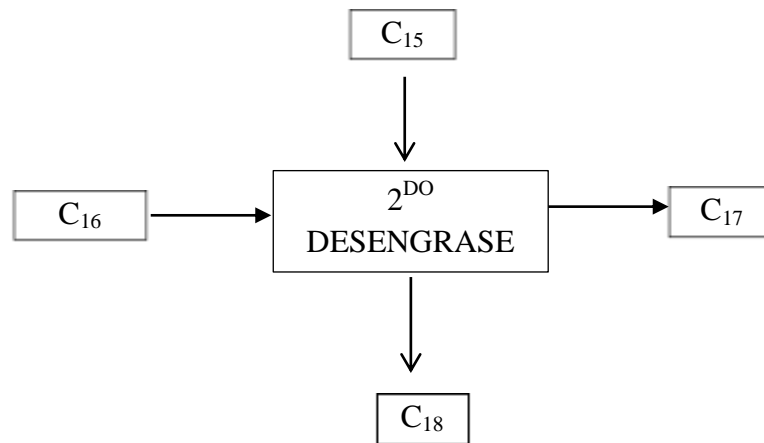
$$C_{14} = C_{13} - C_{15}$$

$$C_{14} = 209.887 \text{ gr} - 63.97\text{gr}$$

$$C_{14} = 145.917\text{gr}$$

➤ **Operación 7. Balance en la etapa de 2^{do} desengrase en la materia prima**

En esta etapa, nuevamente el hueso pasa a un vaso de precipitación, en el que se agrega etanol al 96%, y nuevamente una porción de este evapora quedando hueso + etanol.



Donde:

C₁₅: Hueso filtrado C₁₅ = 63.97gr

C₁₆: Etanol comercial C₁₆ = 169.6 gr

C₁₇: Etanol evaporado C₁₈ = 218.42gr

C₁₈: Etanol+hueso

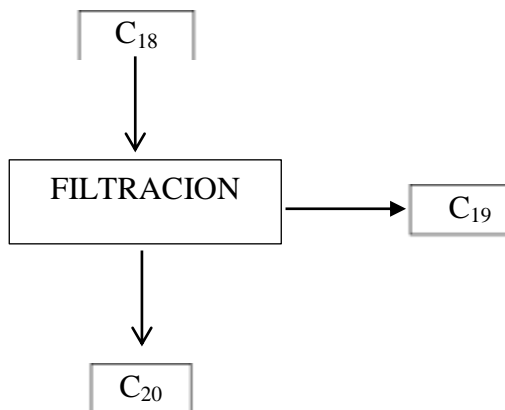
$$C_{15} + C_{16} = C_{17} + C_{18}$$

$$C_{17} = C_{15} + C_{16} - C_{18} = 63.97\text{gr} + 169.6\text{ gr} - 218.42\text{gr}$$

$$C_{17} = 15.15\text{gr}$$

➤ **Operación 8. Balance en la etapa de filtración de la materia prima**

Etanol + hueso ingresa a un embudo de filtración, donde por el tamaño del papel existen pérdidas.



Donde:

C_{18} : Etanol+hueso $C_{18} = 218.42 \text{ gr}$

C_{19} : Perdidas de filtración+alcohol $C_{20} = 59.83\text{gr}$

C_{20} : Hueso filtrado

$$C_{18} = C_{19} + C_{20}$$

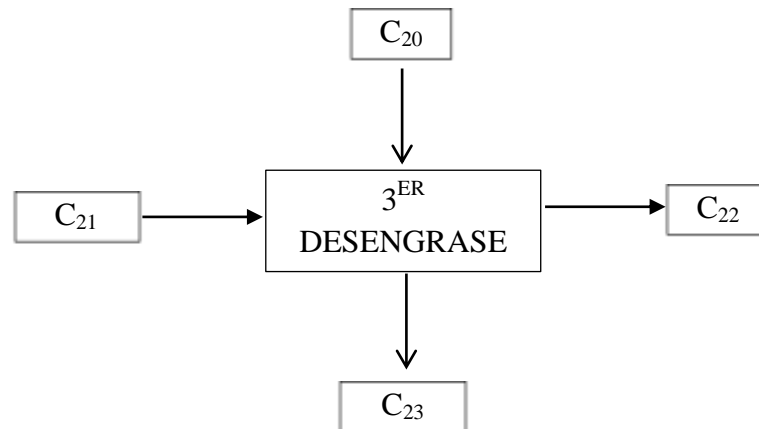
$$C_{19} = C_{18} - C_{20}$$

$$C_{19} = 218.42 \text{ gr} - 59.83\text{gr}$$

$$C_{19} = 158.59\text{gr}$$

➤ **Operación 9. Balance en el 3^{er} desengrase de la materia prima**

Una vez que pasa por la etapa de una segunda filtración, el hueso pasa a un tercer desengrase esta vez con n- hexano, en un equipo soxhlet.



Donde:

C_{20} : Hueso filtrado $C_{20} = 59.83\text{gr}$

C_{21} : N-hexano $C_{21} = 166.74\text{ gr}$

C_{22} : Hexano+grasa $C_{23} = 58.962\text{ gr}$

C_{23} : Hueso desengrasado

$$C_{20} + C_{21} = C_{22} + C_{23}$$

$$C_{22} = C_{20} + C_{21} - C_{23} = 59.83\text{gr} + 166.74\text{ gr} - 59.962\text{gr}$$

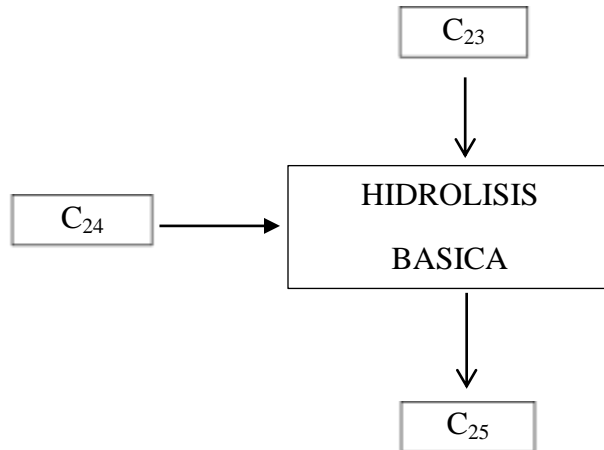
$$C_{22} = 166.60\text{gr}$$

$$M_{\text{impurezas}} = C_{20} - C_{23} = 59.83 - 58.962 = 0.868\text{gr}$$

$$\%_{\text{imp}} = \frac{m_{\text{imp}}}{C_{20}} \times 100\% = \frac{0.868\text{gr}}{59.83\text{gr}} \times 100\% = 1.45\%$$

➤ **Operación 10. Balance en la etapa de Hidrólisis Básica.**

En la etapa de hidrolisis, se agrega NaOH 0.4M al hueso desengrasado en un vaso de precipitación durante 8 hrs a agitación constante.



Donde:

C_{23} : Hueso desengrasado $C_{23} = 58.962\text{gr}$

C_{24} : Hidrolisis básica (NaOH 0.4M) $C_{24} = 110.66\text{ gr}$

C_{25} : NaOH+ hueso

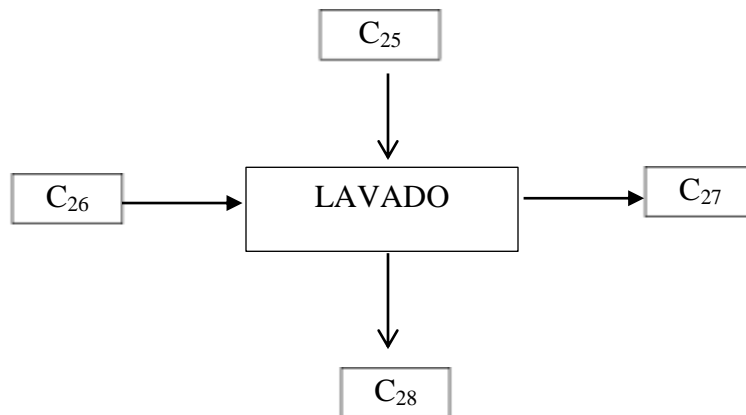
$$C_{25} = C_{23} + C_{24}$$

$$C_{25} = 58.962\text{ gr} + 110.66\text{gr}$$

$$C_{25} = 169.62\text{gr}$$

➤ **Operación 11. Balance en la etapa de lavado.**

Los huesos más el hidróxido son llevados a constantes lavados con agua destilada, hasta llegar a un pH=7.



Donde:

$$C_{25}: \text{NaOH} + \text{hueso} \qquad C_{25} = 169.62 \text{ gr}$$

$$C_{26}: \text{Agua destilada} \qquad C_{26} = 137.26 \text{ gr}$$

$$C_{27}: \text{Agua residual} \qquad C_{28} = 119.06 \text{ gr}$$

$$C_{28}: \text{Hueso lavado} + \text{agua}$$

$$C_{25} + C_{26} = C_{27} + C_{28}$$

$$C_{27} = C_{25} + C_{26} - C_{28} = 169.62 \text{ gr} + 137.26 \text{ gr} - 119.06 \text{ gr}$$

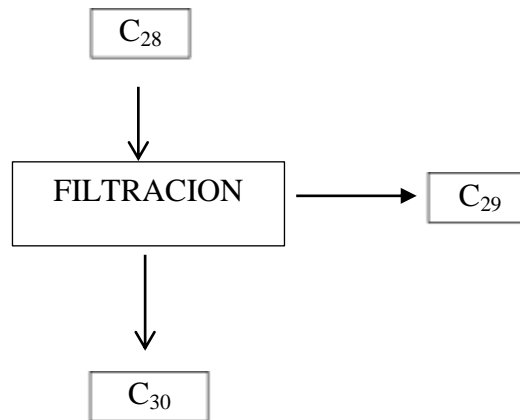
$$C_{27} = 187.82 \text{ gr}$$

$$M_{\text{impurezas}} = C_{25} - C_{28} = 169.62 - 119.06 = 50.56 \text{ gr}$$

$$\%_{\text{imp}} = \frac{m_{\text{imp}}}{C_{28}} \times 100\% = \frac{50.56 \text{ gr}}{119.06 \text{ gr}} \times 100\% = 42.5\%$$

➤ **Operación 12. Balance en la etapa de filtración.**

Una vez que llega a un pH neutro el hueso lavado pasa nuevamente a filtración.



Donde:

C_{28} : Agua+ hueso lavado $C_{28} = 119.06\text{gr}$

C_{29} : Agua residual +hueso perdido $C_{30} = 54.29\text{gr}$

C_{30} : Hueso Filtrado

$$C_{28} = C_{29} + C_{30}$$

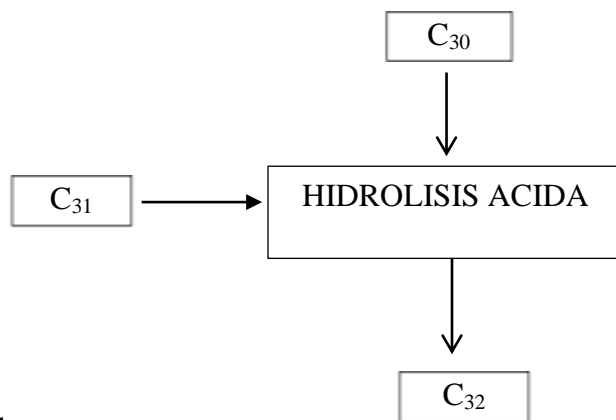
$$C_{29} = C_{28} - C_{30}$$

$$C_{29} = 119.06 \text{ gr} - 54.29\text{gr}$$

$$C_{29} = 64.77\text{gr}$$

➤ **Operación 13. Balance en la etapa de descalcificación.**

En esta etapa, la solución filtrada, pasa a una etapa de descalcificación con EDTA



Donde:

C_{30} : Hueso Filtrado $C_{30} = 54.29\text{gr}$

C_{31} : Acido Acetico $C_{31} = 130.87\text{gr}$

C_{32} : Acido Acetico+hueso

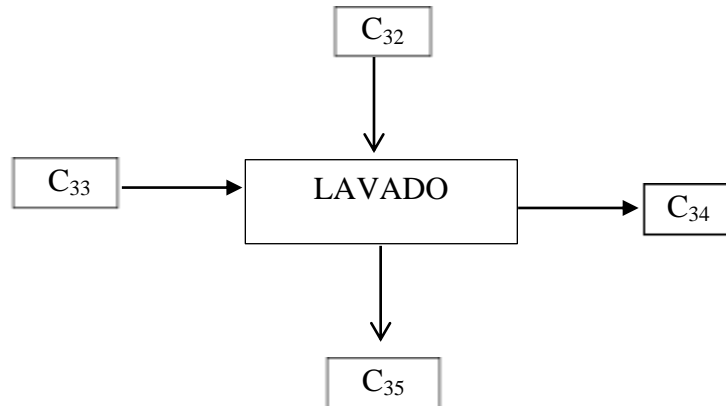
$$C_{30} + C_{31} = C_{32}$$

$$C_{32} = 54.29 + 130.87\text{gr}$$

$$C_{32} = 185.16\text{gr}$$

➤ **Operación 14. Balance en la etapa de lavado.**

En esta etapa se procede a lavar con agua destilada, sacando así el calcio de la muestra.



Donde:

C_{32} : Acido Acético+ hueso $C_{32} = 185.16\text{gr}$

C_{33} : Agua Destilada $C_{33} = 134.28\text{ gr}$

C_{34} : Impurezas $C_{35} = 118.64\text{gr}$

C_{35} : Hueso descalcificado + agua

$$C_{32} + C_{33} = C_{34} + C_{35}$$

$$C_{34} = C_{32} + C_{33} - C_{35} = 185.16\text{gr} + 134.28\text{gr} - 118.64\text{gr}$$

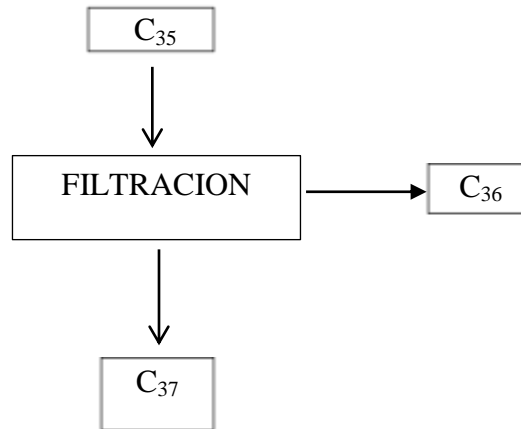
$$C_{34} = 200.8\text{gr}$$

$$M_{\text{impurezas}} = C_{32} - C_{35} = 185.16 - 118.64 = 66.52\text{gr}$$

$$\%_{\text{imp}} = \frac{m_{\text{imp}}}{C_{35}} \times 100\% = \frac{66.52\text{ gr}}{118.64\text{ gr}} \times 100\% = 56.07\%$$

➤ **Operación 15. Balance en la etapa de filtración.**

El hueso descalcificado es filtrado.



Donde:

C_{35} : Hueso descalcificado + agua $C_{35} = 118.64\text{gr}$

C_{36} : Impurezas $C_{37} = 50.13\text{gr}$

C_{37} : Hueso filtrado

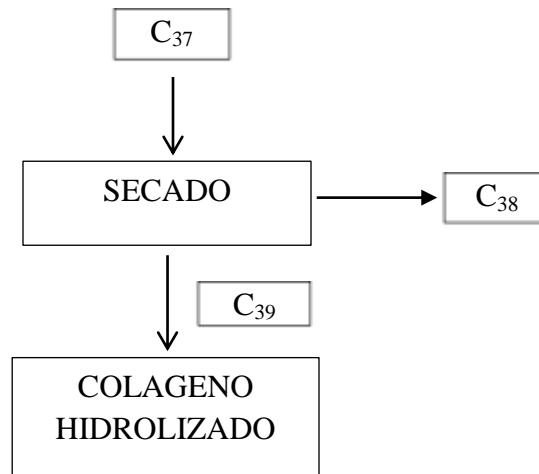
$$C_{35} = C_{36} + C_{37}$$

$$C_{36} = C_{35} - C_{37} = 118.64\text{gr} - 50.13\text{gr}$$

$$C_{36} = 68.51\text{gr}$$

➤ **Operación 19. Balance en la etapa de secado.**

La filtración final es puesta a secar obteniendo así el producto final.



Donde:

C_{37} : Hueso Filtrado $C_{37} = 50.13\text{gr}$

C_{38} : Agua $C_{39} = 49.95\text{gr}$

C_{39} : Producto final

$$C_{37} = C_{38} + C_{39}$$

$$C_{38} = C_{37} - C_{39} = 50.13\text{gr} - 49.95\text{gr}$$

$$C_{38} = 0.18\text{gr}$$

$$\text{masa del producto} = 49.95\text{gr}$$

2.9.3 Balance de Energía

En este acápite se realiza el balance de energía en los procesos de extracción con solvente

Balance en el agitador magnético

La capacidad máxima de trabajo es de 80W a 1500 rot/min, la velocidad a la que se trabaja para el agitado es de 300rot/min. Para obtener los watts a los que trabaja el agitador se hace una relación entre las velocidades y energía utilizada.

$$Q_4 = \frac{80 W \times 300 rpm}{1500 rpm} = 16 W = 0.016 Kw$$

CAPÍTULO III

En el presente capítulo se muestran los resultados obtenidos de la parte experimental del presente proyecto.

3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Se trabajó con huesos de llamas, las características físicas observadas a la hora de adquirir la materia prima son:

Huesos frescos

Edad de la llama de hasta dos años de edad

Los análisis físico-químicos se realizan en los laboratorios de Química de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho y como así del Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID) dependiente de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

A continuación, se detalla los tipos de análisis realizados:

Determinación de Cenizas

Determinación porcentual humedad.

Determinación de grasas

Determinación de Proteínas

Determinación de Calcio

Los parámetros mencionados son seleccionados de acuerdo a referencias bibliográficas basados en proyectos de investigación consultados, los cuales son los que sirven para caracterizar la materia prima.

TABLA III-1**28 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS**

Parámetros	Unidad	Resultados Propios
Proteínas	%	18.5
Humedad	%	6.81
Cenizas	%	62.9
Grasa	%	18.6

Fuente: Elaboración Propia

TABLA III-2**29 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS**

Parámetro	Unidad	Resultado de CEANIT
Cenizas	%	63.79
Proteínas	%	19.73
Humedad	%	6.81
Grasas	%	18
Calcio	mg/100gr	5.35

Fuente: Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo. CEANIT

Los cálculos y las técnicas para los parámetros físicos-químicos en la materia prima realizados por mi persona.

3.2 ANÁLISIS DEL PRODUCTO FINAL

Los análisis físico-químicos del producto final se realizaron en el Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo (CEANID) dependiente de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Dando los siguientes resultados:

TABLA III-3

30 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Parámetro	Unidad	Resultado
Cenizas	%	0.71
Proteínas	%	91.45
Humedad	%	6.83
Grasas	%	0.22
Calcio	mg/100gr	4.76

Fuente: Centro de Análisis, Investigación y Desarrollo. CEANID

3.3 ANALISIS ESTADISTICO DEL DISEÑO FACTORIAL

El análisis estadístico se realiza utilizando el paquete computacional SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Sciences), el mismo que permite un tratamiento integrado de todas las fases del análisis de datos, obteniendo de esta manera resultados más representativos y confiables.

3.3.1. Análisis estadístico del diseño factorial en la determinación de Colágeno

Con el análisis de varianza ANOVA se determina la influencia de los factores Tiempo y Temperatura en la obtención de colágeno y sus respectivas interacciones sobre la variable respuesta. Los datos introducidos al programa SPSS de acuerdo al diseño

experimental planteado se muestran en la Tabla III-4.

TABLA III-4

31 COMBINACIÓN DE VARIABLES A 2 NIVELES

N° pruebas	t_{ij}	T_{ij}	Respuesta Final
1	(8) +1	(10)-1	3.14
2	(8)+1	(10)-1	3.15
3	(12)-1	(10)+1	5.58
4	(12)-1	(25)+1	5.66
5	(8)+1	(10)-1	4.22
6	(8)+1	(25)-1	4.25
7	(12)-1	(10)+1	6.77
8	(12)-1	(25)+1	6.88

Fuente: Elaboración Propia

Como se observa en la Tabla III-4 cada factor posee un nivel superior (1) y un nivel inferior (-1), el mismo que se aclara en el diseño de experimentos.

A continuación, en la Tabla III- 5 se puede apreciar se puede apreciar el análisis de varianza para la variable dependiente o variable respuesta.

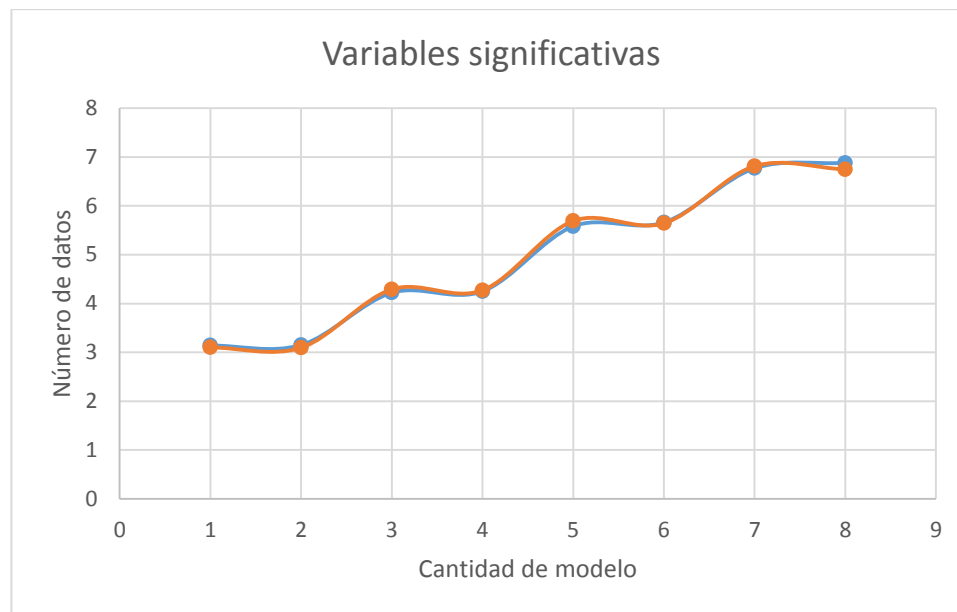
TABLA III-5
32 ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA

Cantidad exp. Cantidad de modelo	N° de Datos		error
3,14	1	3,102	-0,038
3,15	2	3,096	-0,054
4,22	3	4,29	0,07
4,25	4	4,272	0,022
5,58	5	5,69	0,11
5,66	6	5,642	-0,018
6,77	7	6,812	0,042
6,88	8	6,746	-0,134

Fuente: Elaboración propia

Variable dependiente: Cantidad de Colágeno obtenido

A partir de este análisis es posible señalar a las variables más significativas con una confianza del 95%, es decir, variables que poseen una significancia menor al 5% (0.05).

GRAFICA III.1

Fuente: Elaboración propia

3.3.2 Análisis de regresión

El modelo de regresión establece el modelo matemático que relaciona las variables más significativas con la variable respuesta. Para el análisis de regresión, se introdujo al SPSS las variables Tiempo y Temperatura.

TABLA III-6

33 VARIABLES INTRODUCIDAS/ELIMINADAS

Modelo	VARIABLES introducidas	VARIABLES eliminadas	Método
1	TEMP, TIEMPO ^a		Introducir

Todas las variables solicitadas introducidas.

Variable dependiente: Cant.Colágeno

Fuente: SPSS 17.0

TABLA III-7.**34 RESUMEN DEL MODELO^b**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	0.999 ^a	0.999	0.999	0.05721

VARIABLES predictoras: (Constante), TEMP, TIEMPO

VARIABLE dependiente: Cant.de Colágeno

Fuente: SPSS 17.0

TABLA III-8**35 ANOVA^b**

Modelo		Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	15.461	2	7.730	2362.204	0.000 ^a
	Residual	0.016	5	0.003		
	Total	15.477	7			

VARIABLES predictoras: (Constante), TEMP, TIEMPO

VARIABLE dependiente: Cant.Colágeno

Fuente: SPSS 17.0

TABLA III-9

36

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	4.953	0.20		245.052	0.000
	TIEMPO	0.574	0.20	0.413	28.368	0.000
	TEMP	1.266	0.20	0.910	-62.607	0.000

COEFICIENTESa

Variable dependiente: Cant. De Colágeno

Fuente: SPSS 17.0

Por lo tanto, a partir de los coeficientes proporcionados en la Tabla III-9, la ecuación matemática de la regresión es la siguiente:

$$\text{Cant.Total} = 3,450 - 1,175 * t$$

A partir de esta ecuación es posible establecer que a mayor tiempo de obtención mayor la cantidad de colágeno que se obtiene, lo mismo pasa si se procede en la obtención en menor tiempo, se obtiene menor cantidad de colágeno.

3.4 EVALUACIÓN SENSORIAL DEL COLÁGENO

Se realiza el análisis sensorial del colágeno hidrolizado a diferentes temperaturas y tiempos, tales pruebas revelan distintas características, tanto en el color, olor, textura y sabor.

Esta evaluación sensorial se efectúa con la participación de 15 jueces, diferentes personas, calificando el grado de aceptación de cada muestra de colágeno de acuerdo al diseño factorial y adicional al producto final degustaron un poco del producto con

cada una de las pruebas, para dicha evaluación se da recomendaciones anticipadas a los jueces y recuerda la importancia de responsabilidad de evaluación.

El test empleado es mediante el método de la escala hedónica, donde juzgan las siguientes características organolépticas: olor, color, textura y sabor, con los siguientes puntajes:

TABLA III-10.

37 ESCALA HEDÓNICA PARA EVALUACIÓN SENSORIAL DE ATRIBUTOS DEL COLÁGENO

ESCALA HEDÓNICA	
PUNTAJE	NIVEL DE ACEPTACION
5	Me gusta mucho
4	Me gusta moderadamente
3	Ni me gusta ni me disgusta
2	Me disgusta moderadamente
1	Me disgusta mucho

Fuente: Elaboración Propia

Los resultados del análisis sensorial se tabularon para la elección de la muestra de colágeno hidrolizado a diferentes temperaturas y tiempos.

TABLA III-11.

**38 RESULTADO DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA MUESTRA
NOI**

MUESTRA N1					
T= Temperatura 10C; t=Tiempo 8hrs					
JUECES	OLOR	COLOR	TEXTURA	SABOR	Σ
1	2	3	3	3	11
2	2	2	4	2	10
3	4	3	3	4	14
4	4	3	5	4	16
5	3	3	4	3	13
6	4	4	2	3	13
7	3	4	2	1	10
8	4	5	2	4	15
9	2	2	3	3	10
10	3	3	2	2	10
11	4	3	2	2	11
12	3	4	3	2	12
13	2	2	3	2	9
14	3	2	2	3	10
15	3	4	3	2	12
Σ TOTAL	46	47	43	40	
PROMEDIO	3.066	3.133	2.866	2.666	

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla III-11 el atributo con más aceptabilidad es el de color, seguido del olor, por último, el atributo con el menor promedio es el del sabor.

TABLA III-12.

39 RESULTADO DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA MUESTRA

NO
2

MUESTRA N° 2					
T= Temperatura 25 °C; t=Tiempo 8hrs					
JUECES	OLOR	COLOR	TEXTURA	SABOR	Σ
1	3	3	2	3	11
2	4	2	3	3	12
3	3	3	4	4	14
4	3	3	2	3	11
5	3	3	2	2	10
6	3	4	2	4	13
7	4	5	3	4	16
8	2	2	3	2	9
9	3	2	2	3	10
10	3	4	3	2	12
11	2	3	2	3	10
12	3	2	4	3	12
13	2	3	4	2	11
14	3	2	3	2	10
15	3	4	3	2	12
Σ TOTAL	44	45	42	42	
PROMEDIO	2.933	3	2.8	2.8	

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla III-12 el atributo con más aceptabilidad es el de color, seguido del olor y por último los atributos con el menor promedio es la textura y sabor con el mismo promedio de evaluación.

TABLA III-13.

40 RESULTADO DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA MUESTRA NO3

MUESTRA N° 3					
T= Temperatura 10 °C; t=Tiempo 12 hrs					
JUECES	OLOR	COLOR	TEXTURA	SABOR	Σ
1	2	3	2	3	10
2	2	3	4	4	13
3	1	2	4	3	10
4	3	3	4	3	13
5	1	3	2	2	8
6	1	3	3	3	10
7	1	2	1	4	8
8	1	2	2	3	8
9	1	2	3	2	8
10	2	1	2	2	7
11	2	2	2	2	8
12	1	2	1	2	6
13	2	3	3	2	10
14	1	2	3	3	9
15	2	2	3	3	10
Σ TOTAL	23	35	39	41	
PROMEDIO	1.533	2.333	2.6	2.733	

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla III-13 el atributo con más aceptabilidad es el sabor, seguido de la textura y el color, por último, el atributo con el menor promedio es el olor.

TABLA III-14.

41 RESULTADO DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE LA MUESTRA

MUESTRA N° 4					
T= Temperatura 25°C; t=Tiempo 12 hrs					
JUECES	OLOR	COLOR	TEXTURA	SABOR	Σ
1	4	4	4	5	17
2	5	5	4	3	17
3	4	5	5	4	18
4	5	5	5	4	19
5	4	4	4	3	15
6	4	4	5	4	17
7	4	5	5	1	15
8	5	5	5	4	19
9	5	4	5	5	19
10	5	4	4	4	17
11	4	5	5	4	18
12	4	4	3	3	14
13	4	5	5	3	17
14	5	4	5	4	18
15	5	4	4	3	16
Σ TOTAL	67	67	68	54	
PROMEDIO	4.466	4.466	4.53	3.6	

N04

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla III-14 el atributo con más aceptabilidad es la textura, seguido del olor y color con el mismo promedio de evaluación, por último, el atributo con el menor promedio es el sabor.

3.5 RENDIMIENTO FINAL DEL PRODUCTO

El cálculo para el rendimiento del producto se determinó a partir de la siguiente fórmula:

$$\%_{rend \ del \ proceso} = \frac{masa \ del \ producto(gr)}{masa \ inicial \ de \ materia \ prima(gr)} \times 100\%$$

Donde:

Masa del producto obtenido=49.98gr

Masa inicial de materia prima= 100gr

$$\%rend\ del\ proceso = \frac{49.95gr}{100gr} \times 100\%$$

$$\%rend\ del\ proceso = 49.9\%$$

3.6 PRUEBAS CUALITATIVAS

A continuación, se muestran los resultados obtenidos en las pruebas de identificación cualitativas. Para identificar la proteína se realiza la prueba de Biuret y la de la Ninhidrina, en la primera de acuerdo a la intensidad del color se verifica la presencia de enlaces pépticos propios de una proteína “colágeno”, en la segunda se verifica la presencia de aminoácidos los cuales componen una proteína, las dos pruebas realizadas confirmaron la presencia tanto de enlaces pépticos como de α -aminoácidos.

TABLA III-15

42 RESULTADOS DE LAS PRUEBAS CUALITATIVAS

	BIURET	NINHIDRINA
RESULTADOS	Positivo(+) Presencia de Enlaces peptídicos	Positivo(+) Presencia de α - aminoácidos
OBSERVACIONES	Formación de un color violeta	Formación de un color violeta intenso

Fuente: Elaboración Propia

CAPITULO IV

4.1 CONCLUSIONES

- ✓ Las propiedades fisicoquímicas de los huesos de llama: Se determina en el CEANID (Centro de Análisis Investigación y Desarrollo) controlando parámetros como calcio, proteína, grasa, cenizas calcio, dando resultados de parámetros óptimos, que se pueden corroborar en los documentos escaneados que se presentan en anexos. No se cuenta con una norma que aprueben los parámetros determinados, pero sin embargo se hace una comparación con diferentes estudios realizados en Proyectos de Grado con respecto al tema, dicho esto; se puede decir que los resultados encontrados son los óptimos.
- ✓ El proceso tecnológico para la obtención de colágeno, se realizó en un medio ácido-básico utilizando Hidróxido de Sodio y ácido Acético a diferentes concentraciones, en donde se observó que a 0.1M de NaOH y 0.7M en el ácido se lograba obtener colágeno ya que se producía una hidrólisis total.
- ✓ La metodología experimental que se aplicó, fue efectiva para la extracción del colágeno, ya que se obtuvo un producto sólido y con las características deseadas, es una metodología factible ya que aparte de otorgar un grado de importancia a estos residuos, ayuda a disminuir la contaminación ambiental.
- ✓ Las propiedades fisicoquímicas del producto final: colágeno, se determina en el CEANID (Centro de Análisis Investigación y Desarrollo) controlando parámetros como calcio, proteína, grasa, cenizas calcio, dando resultados de parámetros óptimos, que se pueden corroborar en los documentos escaneados que se presentan en anexos. No se cuenta con una norma que aprueben los parámetros determinados, pero sin embargo se hace una comparación con diferentes estudios realizados en Proyectos de Grado con respecto al tema, dicho esto; se puede decir que los resultados encontrados son los óptimos.

- ✓ Realizadas los análisis sensoriales del colágeno hidrolizado a diferentes temperaturas y tiempos, por 15 personas ajenas al proyecto de grado, tales pruebas revelan distintas características, tanto en el color, olor, textura y sabor. Saliendo ganadora la prueba número 4 que se realizó a una temperatura de 25°C y 12 hrs extracción.
- ✓ Realizando un cálculo nuevo, se determinó que la capacidad de un molino de martillos, para ser utilizado por pequeños productores en la industria es de: 150Kg/hr con una potencia de 5.5 Hp.
- ✓ Las pruebas cualitativas de Biuret y de la Ninhidrina reaccionaron con la proteína como se esperaba, es decir se detecta presencia de enlaces peptídicos y positivo en la coloración violeta en la prueba de biuret, así también en la prueba de ninhidrina da positiva la coloración y se detecta la presencia de α -aminoácidos.
- ✓ El rendimiento del colágeno obtenido fue de 49.9 % partiendo de 100.0 g de materia prima, siendo el factor principal el tiempo de extracción, pues se debe realizar en un tiempo óptimo de 8 horas en la etapa básica y 12 horas para la etapa ácida, si el tiempo de extracción es muy corto, no se obtiene un buen producto.
- ✓ Con todos los resultados de la obtención del colágeno, y como de la identificación, se confirma que se cumplió con todos los objetivos planteados.

4.2 RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda promover el uso de desechos de huesos de llama, para poder darle un grado de importancia a este residuo, obteniendo colágeno, el cual no solo tiene fines alimenticios, sino también puede ser utilizado con fines cosmetológicos.
- ✓ Realizar una optimización del proceso de extracción de colágeno, para poder proyectarlo a nivel planta piloto.
- ✓ Se recomienda optimizar el proceso de filtración para no tener pérdidas del producto extraído.
- ✓ Utilizar la materia prima recolectada en un lapso de tiempo no mayor a las 24 horas, para evitar su descomposición.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Carlos Peralta. Neify Rivera. Lucila Gualdrón. (2012). Extracción de Colágeno en medio ácido- básico a partir de cascotes de bovino, Universidad “La Salle” de Colombia, Facultad de Ingeniería de Alimentos.
- [2] Fundación José Pastor Fuertes (2013) Colágeno, Charlas proporcionadas por diferentes expertos en el tema, Universidad de Valencia.
- [3] Yin S, Tang C, Cao J, Hu E, Wen Q, Yang X (2008) Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate.
- [4] Gómez Lizárraga (2011) Obtención y caracterización de colágena tipo I a partir del tendón Bovino, Universidad Nacional Autónoma de México.
- [5] Jairo A Rivera; Carlos H Riaño; Paula A Monsalve; Adriana Osorio (2003) Injertos óseos - Nueva alternativa. Fase I. Extracción de proteínas morfogenéticas parcialmente purificadas de hueso bovino, Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias.
- [6] Oksanen J, Marttinen A, Paatsama S, Lindholm T (1998). Extraction and characterization of native canine bone morphogenetic protein (cBMP) qualified with osteo inductivity.
- [7] Christian David Castro Vargas (2012) Extracción de colágeno a partir de crestas de pollo, Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias Básicas, ciudad de Bucaramanga.
- [8] FAO. 2005. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Bolivia. TCP/RLA/2914. Roma, Italia. 56 p.
- [9] Biofísicoquímica de los perfiles metabólicos de fósforo, calcio y magnesio de llamas autóctonas de la localidad de Abra pampa- Jujuy (2009-2012).
- [10] VI Congreso Mundial de Camélidos Sudamericanos (2012), Arica –Chile
- [11] Bustamante Cano, Rivera Posada, Fernández Revuelta, Alonso P (2007) Obtención de proteínas morfo -genéticas óseas parcialmente purificadas a partir de hueso bovino.
- [12] Ashby E, Rudkin G, Ishida K, Miller T (1996) Evaluation of a novel osteogenic factor, bone cell stimulating substance, in a rabbit cranial defect model. Plastic and Reconstructive Surgery.
- [13] Bowman SM, Zeind J, Gibson LJ, Hayes WC, McMahon TA. The Tensile Behavior of Demineralized Bovine cortical Bone. J. Biomchanics 1996

- [14] Osuna-Lizárraga, A.E., Escobedo-Lozano, A.Y.*, Méndez Gómez, E., Vázquez-Olivares, A.E., Martínez-Sánchez, H.F.(2007) Extracción, caracterización parcial y evaluación de la digestibilidad *in vitro* de la proteína asociada al exoesqueleto del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*).
- [15] Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana (2008) Ricardo Benítez, Albert Ibarz, Jordi Pagan. Hidrolizados de proteína procesos y aplicaciones.
- [16] SEYMOUR, Raymond B; CARRAHER, Charles. Introducción a la química de los polímeros. Editorial Reverte S.A. Barcelona. 1995. p 325
- [17] NELFA FRANCISCA MAMANI CONDORI, “Producción de Colágeno a partir de Huesos de Llama (*Lama glama*)”. Tesis de Grado UNIVERSIDAD TÉCNICA DE ORURO FACULTAD NACIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA, Año 2007.
- [18] ING. JENIFER CAROLINA SERRANO GAONA, “Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis*) y cachama (*Piaractusbrachypomus*)”, tesis para Magister en Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería, Año 2011, Pág. 6-8.
- [19] Bitar, M., V. Salih, et al. (2007). "Effect of multiple unconfined compression on cellular dense collagen scaffolds for bone tissue engineering." J Mater Sci: Mater Med**18**: 237–244.
- [20] González Tuero, J., R. Rodríguez Ramírez, et al. (2004). "Heridas. Métodos de tratamiento." Retrieved 4 de abril, 2011, from
- [21] ING.MARIA TATIANA HUANCA, “Recuperación de colágeno de desechos de sábalo, especie de pescado consumido en la ciudad de la paz, con fines cosmetológicos”, proyecto de grado en la facultad de tecnología carrera química industrial, Universidad Mayor de San Andrés, Año 2014, Pág.18
- [22] ING.ANDREA CAROLINA NUÑEZ SOLIZ, “Obtención de una película de bioplástico a partir de colágeno de las patas de pollo”, proyecto de grado para la obtención del título de ingeniera química, Universidad Central del Ecuador, Año 2014, Pág.6
- [23] ING.MARIA PADILLA MARTINEZ, “Puesta en marcha de un protocolo de extracción química de colágeno de huesos arqueológicos”, proyecto de grado para la obtención del título de ingeniera química, Universidad Autónoma de Madrid.

<https://es.khanacademy.org/science/biology/macromolecules/proteins-and-amino-acids/a/introduction-to-proteins-and-amino-acids>

<http://farmaciencia.org/el-secreto-del-los-suplementos-de-colageno>

<https://www.gelita.com/sites/default/files/documents/2016-02/15035%20Peptides%20Technik-Broschuere%20esp%20SA%20RZ01%20%28Web%29.pdf>

<http://www.kolageno.com/que-es-el-colageno/>

<https://www.lifeder.com/glicina/>

<https://arribasalud.com/prolina/>

<http://biocoments.blogspot.com/2016/04/prueba-de-biuret-proteinas.html>

<http://hablemosclaro.org/ingrepedia/acido-acetico/#1502293691178-e5ac3059-a00b>

<http://hablemosclaro.org/ingrepedia/etanol-alcohol/#1502295071259-27370acc-ff9b>

http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol8_1_04/san07104.htm

https://es.wikipedia.org/wiki/Estructura_de_las_prote%C3%ADnas

ANEXOS

ANEXO A

**ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS REALIZADOS EN EL
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO (CEANID) DEPENDIENTE DE LA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO.**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
 FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"
 CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
 Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
 Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
 Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
 Laboratorio Oficial del "SENASAG"



INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Maria René Ruiz Aldana				
Solicitante:	Maria René Ruiz Aldana				
Dirección:	Barrio Aeropuerto				
Teléfono/Fax:	79251780	Correo-e:	*****	Código:	MO 014/17

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	1er. Desengrase colageno				
Código de muestreo:	***	Fecha de vencimiento:	*****	Lote:	***
Fecha y hora de muestreo:	2017-11-10 Hrs. 13:00				
Procedencia (Localidad/Provi. /Zona):	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia				
Lugar de muestreo:	Laboratorio de Física				
Responsable de muestreo:	Maria René Ruiz Aldana				
Código de la muestra:	2006 FQ 1525	Fecha de recepción de la muestra:	2017-11-10		
Cantidad recibida:	30 g	Fecha de análisis de la muestra:	Del 2017-11-10 al 2017-11-28		

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LÍMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LÍMITES
				Min.	Max.	
Ceniza	NB 39034.10	%	64,07	Sin Referencia		Sin Referencia
Fibra	Gravimétrico	%	n.d	Sin Referencia		Sin Referencia
Proteína total (Nx6,25)	NB/ISO 8968-1:08	%	19,59	Sin Referencia		Sin Referencia

NI Norma Boliviana
 n.d. No detectado

OO Organización Internacional de Normalización

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 28 de noviembre de 2017

Ing. Raúl Aceituno Cáceres
 JEFE DEL CEANID



Original Cliente
 Copia CEANID

ANEXO C

**FOTOGRAFÍAS DE LOS HUESOS DE LLAMA
DESECHADOS EN EL MATADERO DE YUNCHARA**



ANEXO B

**ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA MATERIA PRIMA
REALIZADOS EN LOS LABORATORIOS DE QUÍMICA
DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL
SARACHO**

DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Procedimiento

- 1.- En crisol de porcelana previamente tarado, es decir calcinado y llevado a peso constante se coloca de 2 a 5gr de muestra seca.
- 2.- Coloque el crisol en una mufla y calcínelo a 600°C por cinco horas, dejar enfriar y pasar a un desecador.
- 3.- Cuidadosamente pesar nuevamente el crisol que contiene la ceniza, repetir el procedimiento hasta peso constante.

$$\%Cenizas = \frac{C - A}{B - A} * 100$$

Donde:

A= masa del crisol vacío en gramos

B= masa del crisol y la muestra seca en gramos

C= masa del crisol y la muestra calcinada en gramos

$$\%Cenizas = \frac{C - A}{B - A} * 100$$

$$\%Cenizas = \frac{38.9061 - 36.3264}{40.3885 - 36.3264} * 100 = 62.9\%$$



DETERMINACION DE HUMEDAD

Para la determinación de la humedad se empleó el secador infrarrojos SARTORIUS MA 100 (ver foto 2.10), el cual cuenta con un juego de platillos de 90 mm de diámetro

Para la determinación de la humedad se procedió de la siguiente manera:

- Se programó la balanza de humedad para que realizara el secado de hueso a 105 grados celsius, hasta llegar a peso constante.
- Se pesaron en la balanza 3 gramos de muestra.
- Se inició el proceso.
- Se registró el dato del contenido de humedad toda vez que la balanza concluía con la determinación.



DETERMINACION DE MATERIA GRASA POR EL MÉTODO SOXLETH

Procedimiento para determinar materia grasa. Método Soxhelt

1.- Objetivo

Determinar la concentración de la materia grasa cruda o extracto etéreo libre.

2.- Campo de aplicación

El método es aplicable en muestras de alimentos en general y en alimentos que no han sido sometidos a tratamiento térmico. (Carnes, cereales, sopas, granos de semillas, etc.)

3.- Fundamento

Una cantidad previamente homogeneizada y seca, medida o pesada del alimento se somete a una extracción con éter de petróleo o éter etílico, libre de peróxidos o mezcla de ambos. Posteriormente, se realiza la extracción total de la materia grasa libre por soxhlet.

4. - Referencias

Official Methods of Analysis A.O.A.C. 15th Edition, U.S.A. (1990)

5.-Terminología

N/A

6.- Material y Equipo

- Sistema extractor Soxhelt
- Balanza analítica
- Papel filtro o dedal de celulosa
- Baño termorregulador
- Estufa de aire $102^{\circ}\text{C} \pm 2$

- Tamiz de malla de 1mm
- Manto calefactor o rota vapor
- Material usual de laboratorio

7.- Reactivos

- Benceno
- Eter de petróleo P.E 40-60°C

8.- Procedimiento

Preparación de la muestra

En muestras con mucha humedad homogeneizar y secar a 103°C en estufa de aire considerando el tipo de muestra.

- *Moler y pasar por el tamiz de malla de 1mm
- *Pesar en duplicado de 2 a 5 gr de muestra preparada en el dedal de extracción o papel filtro previamente pesado y tapado con algodón desgrasado. Registrar m.
- * Secar el matraz de extracción por 30 min a 103°C
- * Pesar el matraz de extracción. Registrar m1
- * Poner el matraz de extracción en el sistema soxhlet, el dedal en el tubo de extracción y adicionar el solvente al matraz.
- * Extraer la muestra con el solvente de seis a ocho horas a una velocidad de condensación de 6 a 3 gotas g/seg.
- * Una vez terminada la extracción eliminar el solvente por evaporación en rotación o a baño Maria bajo campana hasta que no se detecte el olor a solvente.
- * Secar el matraz con la grasa en estufa a 103°C por 10 minutos, enfriar en desecados y pesar. Registrar m2.

9.- Cálculo y expresión de resultados

$$\% \text{ grasa} = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

Donde m: peso de la muestra

m1: tara de matraz solo

m2: peso del matraz con grasa

$$\% \text{ grasa} = \frac{6.243\text{gr} - 4.377\text{gr}}{10\text{gr}} \times 100$$

$$\% \text{ grasa} = 18.66$$



ANEXO E

**CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS
UTILIZADOS**

Foto. Balanza analítica

Balanza Analítica

Marca: Europe

Rango de temperatura: +15/ +30°C

Exactitud: 0.01g

Potencia: 220W

Capacidad Máxima: 510 g

Capacidad Mínima: 1 g



Fuente: Elaboración Propia

Foto. Molino de Martillos

Molino de Martillos

Marca: Ivymen

Exactitud: 0.01g

Potencia: 2.2Kw

Capacidad Máxima: 30g

Capacidad Mínima: 10 g



Fuente: Elaboración Propia

Foto. Tamizador

Tamizador

Marca: Orto-Alresa

Accesorios: 1 juego de tamices

Tensión: 220 V y 110V

Frecuencia: 50 – 60 Hz

Velocidad: 2500 RPM

Consumo: 100 W



Fuente: Elaboración Propia

Foto. Secador infrarrojos termocontrol

Marca: Sartorius

Modelo: MA100

Dimensiones: 350x452x156

Peso Neto aprox: 8kg

Tensión: 230V y 115V

Frecuencia: 48- 60 Hz



Fuente: Elaboración propia

Foto. Agitador Magnético

Agitador Magnético

Marca: Europe

Rango de temperatura: +15/ +30°C

Exactitud: 0.01g

Potencia: 220W

Capacidad Máxima: 510 g

Capacidad Mínima: 1 g



Fuente: Elaboración Propia

Foto.Extractor Soxhlet

Equipo Soxhlet

- Se compone de un matraz de fondo redondo
- un extractor con esmerilado NS 29/3
- un condensador con rosca GL14.



Fuente: Elaboración Propia

ANEXO F

ANÁLISIS CUALITATIVOS DEL PRODUCTO

Análisis cualitativo de Proteínas

Para efectuar el análisis cualitativo de las proteínas en el producto obtenido se procede a realizar pruebas de biuret.

PRUEBA DE BIURET

Se agrega 2ml de NaOH al 20% al producto y se añaden de 3 a 4 gotas de sulfato cúprico, se realiza una pequeña agitación y se observa el cambio de color violeta.

Material

Biológico.	Químicos.
Solución de albumina de huevo(clara de huevo diluida 1:10)	Hidróxido de Sodio 20%.
	Sulfato Cuprico
Agua destilada.	

Procedimiento

1. Enumeramos tres tubos de ensayo.
2. En el tubo número uno colocamos 2ml de agua destilada (blanco).
3. En el tubo dos, colocamos 2ml de solución de glicina al 1%.
4. En el tubo número tres, colocamos 2ml de albumina de huevo al 1%.
5. Añadimos a cada tubo 2ml del reactivo de biuret.
6. Mezclamos y observamos.

Tubo.	Agua destilada.	Muestra colágeno	Albumina de huevo al 1%.	NaOH 20%	Sulfato Cuprico
Núm. Uno blanco.	2ml.	-	-	2ml.	3 gotas
Núm. Dos patrón.	-	-	2ml	2ml.	3 gotas
Núm. Tres muestra.	-	-2ml	-	2ml.	3 gotas

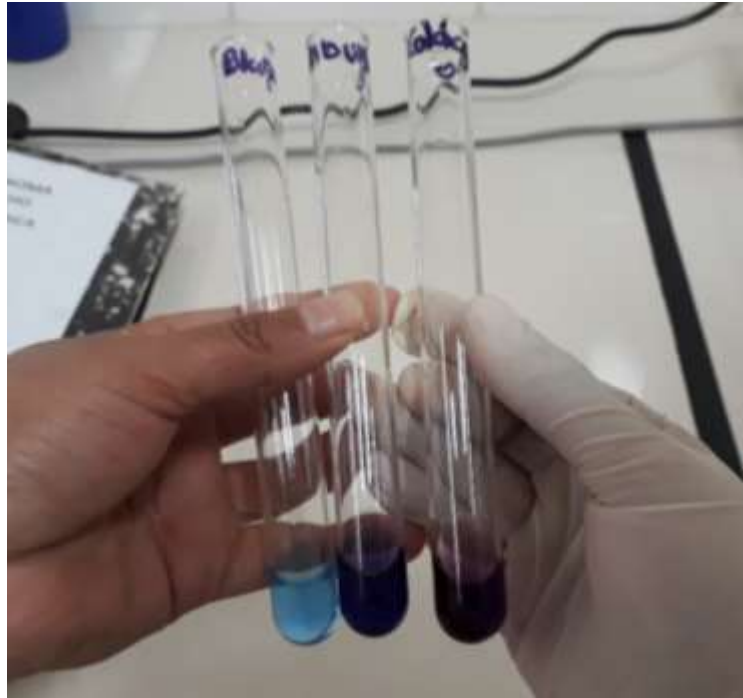
Observaciones

- En el primer tubo pudimos observar que cambio a un color celeste claro, con textura.
- En el segundo tubo observamos que cambio a color lila claro sin espumas, este cambio a lila ya que es aquel que contiene albumina de huevo, debido que contiene enlaces peptídicos.
- En el tubo tres observamos que también existieron los cambios a color lila claro, llegando a la conclusión que en la muestra, existen enlaces peptídicos

Conclusiones

- Las proteínas están enlazadas con enlaces peptídicos, disulfuros puentes de hidrógeno de la cadena carbonada.
- Las proteínas constituyen una de las moléculas más importantes en el organismo ya que cumplen muchas funciones
- Al realizar las diferentes pruebas con la albúmina se pudo comprobar experimentalmente efectivamente que se trata de una proteína.
- El reactivo biuret sólo funciona para detectar la presencia de proteínas, mas no incluye aminoácidos, puesto que el biuret reacciona con enlaces peptídicos formados por la unión de aminoácidos propios de las proteínas.

Figura III-24: Prueba cualitativa para presencia de Proteínas con la prueba de biuret



Fuente: Elaboración propia

PRUEBA NINHIDRINA

Material

- Solución de albumina de huevo (clara de huevo diluida 1:10)
- Muestra de producto (colágeno)
- Solución de ninhidrina al 0.3%
- Agua destilada

Procedimiento

1. Enumeramos tres tubos de ensayo.
2. En el tubo número uno colocamos 2 ml de agua (blanco).

3. En el tubo número dos colocamos 2 ml de solución de colágeno 1:10
4. En el tubo número tres colocamos 2 ml de solución de albumina de huevo.
5. Agregamos a cada tubo 10 gotas de solución de ninhidrina al 0.3%.
6. Mezclamos y colocamos en baño maría durante cinco minutos

Tubo	Agua destilada	Glicina al 1%	Albúmina de huevo	Reactivo ninhidrina al 0.3%
Núm. uno <i>Blanco</i>	2ml	-----	-----	3 gotas
Núm. dos <i>Patrón</i>	-----	2ml	-----	3 gotas
Núm. tres <i>muestra</i>	-----	-----	2ml	3 gotas

Resultados

- En el tubos dos que debieron presentar color azul violeta, al reaccionar con la ninhidrina cambió casi inmediatamente a azul violeta; lo cual nos reveló la presencia de aminoácidos.
- En el tubo tres se dio un cambio de color a celeste bajo o amarillo al reaccionar con la ninhidrina y este demoró más tiempo en cambiar de color y la presencia de aminoácidos fue menos que la del tubo dos.

ANEXO G

**ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DEL PRODUCTO FINAL
REALIZADOS EN EL CENTRO DE ANÁLISIS,
INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO (CEANID)
DEPENDIENTE DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
JUAN MISAEL SARACHO.**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
 FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"
 CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"
 Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
 Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
 Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
 Laboratorio Oficial del "SENASAG"



INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	María René Ruiz Aldana				
Solicitante:	María René Ruiz Aldana				
Dirección:	Calle 6 de junio s/n - Barrio Aeropuerto				
Teléfono/Fax:	79251780	Correo-e:	***	Código:	MO 002/18

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Colágeno hidrolizado de hueso de llama				
Código de muestreo:	*****	Fecha de vencimiento:	***	Lote:	***
Fecha y hora de muestreo:	2018-06-05				
Procedencia (Localidad/Prov./País):	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia				
Lugar de muestreo:	Lugar de elaboración				
Responsable de muestreo:	María René Ruiz Aldana				
Código de la muestra:	464 FQ 311	Fecha de recepción de la muestra:	2018-06-07		
Cantidad recibida:	53 g	Fecha de ejecución de ensayo:	De 2018-06-07 al 2018-06-20		

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LÍMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LÍMITES
				Min.	Max.	
Calcio	Absorción Atómica	mg/100g	4,76	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Ceniza	NB 39034-10	%	0,71	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Fibra	Gravimétrico	%	n.d.	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Grasa	NB 313019-06	%	0,22	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Hidratos de Carbono	Cálculo	%	0,79	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Humedad	NB 313010-05	%	6,83	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Proteína (Nx5,55)	NB/ISO 8968-1-08	%	91,45	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Valor energético	Cálculo	Kcal/100 g	370,94	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia

NB: Norma Boliviana
 N: Normas
 n.d.: No detectado
 AIA: Alcatraz
 IED: Organización Internacional de Normalización

- 1) Los resultados reportados se refieren a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente.

Tarija, 20 de junio de 2018

Ing. Adalid Aceituno Cáceres
 JEFE DEL CEANID



Original: Cliente
 Copia: CEANID