



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL Y
COMERCIO EXTERIOR**

**“Caracterización Físicoquímica Del Colágeno Hidrolizado Tipo I Obtenido De
Extremidades De Pollo (*Gallus Gallus Domesticus*) Extraído Con
Microorganismos Eficaces EM-1”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Ingeniera Agroindustrial y Comercio Exterior**

AUTORA:

Castrejón Cépeda, Lady Carol (ORCID: 0000-0001-9527-8328)

ASESORA:

Ing. Pagador Flores, Sandra Elizabeth (ORCID: 0000-0001-6371-7138)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Procesos Agroindustriales

TRUJILLO - PERÚ

2019

DEDICATORIA

En primer lugar, mi familia, mis abuelos: Homero y Carmela, que siempre estuvieron apoyándome y sintiéndose orgullosos de mí; a mis padres: Gilmer y Roxana por la confianza y el apoyo incondicional durante todo este tiempo de estudios universitarios.

A Elmer, mi amigo, compañero y amor de mi vida, que siempre estuvo ahí en los momentos más difíciles y felices de mi vida, ayudándome a seguir adelante y dándome los consejos necesarios en cada decisión que he tomado y siempre apoyándome.

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar, a Dios por guiarme durante todo este camino dándome las fuerzas necesarias para avanzar, a mis padres que estuvieron en todo momento a mi lado, brindándome su apoyo.

En segundo lugar, a mi asesora Ing. Sandra Pagador Flores, por el apoyo en el desarrollo de este proyecto, los conocimientos y enseñanzas compartidas en esta etapa universitaria, la cual fue un constante aprendizaje.

A esa persona que desde que conocí me repetía que debo ser una gran profesional y que siempre debo estudiar para que termine la carrera y sea un ejemplo para otras personas. R.G.B.A.

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN

II. MÉTODO

2.7. Tipo y diseño de investigación

2.8. Operacionalización de variables

2.9. Población, muestra y muestreo

2.10. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

2.11. Procedimiento

2.12. Método de análisis de datos

2.13. Aspectos éticos

III. RESULTADOS

IV. DISCUSIÓN

V. CONCLUSIONES

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal caracterizar fisicoquímicamente el colágeno hidrolizado Tipo I obtenido de extremidades de pollo (*Gallus Gallus Domesticus*) extraído con microorganismos eficaces EM-1. En primer lugar, se activaron los microorganismos eficaces EM-1 para su posterior empleo, posteriormente se comenzó con el proceso de obtención de las muestras a partir de la materia prima aplicando los microorganismos eficaces EM-1, obteniéndose tres repeticiones. Se analizaron las características fisicoquímicas (pH, % Proteínas, % Grasas y % Humedad) de la muestra obtenida de colágeno hidrolizado de extremidades de pollo. El promedio de los resultados obtenidos del colágeno hidrolizado para pH 8.2, % Proteínas 6.39, % Grasas 1.41 y % Humedad 14.17. Finalmente se realizó un análisis de varianza (ANOVA) dando como resultado que no existe diferencia significativa entre las tres repeticiones de la muestra de colágeno.

Palabras Claves: Colágeno, Hidrólisis, Pollo, Microorganismos, EM-1.

ABSTRACT

The main objective of this research work is to physicochemically characterize type I hydrolyzed collagen obtained from chicken extremities (*Gallus Gallus Domesticus*) extracted with effective microorganisms EM-1. In the first place, the effective microorganisms EM-1 were activated for their subsequent use, then the process of obtaining the samples from the raw material was started by applying the effective microorganisms EM-1, obtaining three repetitions. The physicochemical characteristics (pH, % Protein, % Fat and % Humidity) of the sample obtained from hydrolyzed collagen from chicken extremities were analyzed. The average results obtained from hydrolyzed collagen for pH 8.2, % Protein 6.39, % Fat 1.41 and % Humidity 14.17. Finally, an analysis of variance (ANOVA) was carried out, showing that there is no significant difference between the three repetitions of the collagen simple.

Keywords: Collagen, Hydrolysis, Chicken, Microorganisms, EM-1.

I. INTRODUCCIÓN

La Tecnología ha evolucionado en estos últimos años, aportando con el diseño y elaboración de un número cada vez mayor de nuevos productos diseñados, que permiten mejorar la alimentación, en la actualidad el colágeno es la proteína de mayor cantidad en el cuerpo. Pero realmente es un proteoglicano: una composición constituida de proteínas y carbohidratos. Cuando finalmente se excluyen los carbohidratos del colágeno, quedando únicamente la proteína. Éste es un producto natural que comprende más de un 97% de proteínas, que contiene 18 aminoácidos, de estos, ocho son aminoácidos esenciales, los que el cuerpo debe incluir con la comida porque no pueden ser sintetizadas, el colágeno es un elemento primordial de la piel, músculos, huesos, ligamentos, cartílagos, entre otros. El colágeno forma parte de la formación de la pared de los vasos sanguíneos, encías, dentina, corneas y cabello, y como del tejido conectivo que cubren nuestros músculos y órganos.

Producto de la hidrólisis parcial de insumos pecuarios es el colágeno y que tiene una extensa historia como parte de la alimentación del ser humano, se tienen pruebas de su empleo en países del oriente, por ejemplo la regularización de la presión arterial, y en un procedimiento para la curación de las hemorragias, en primer lugar como efecto beneficioso de consumir colágeno popular en lugares occidentales y que promulgó la rectora de Alemania Hildegarda de Bingen en 1175, que detalló cómo usar el colágeno es benéfico para las condiciones adecuadas de articulaciones disminuyendo los malestares (Iwai et al., 2005).

En la actualidad han explicado que el producto que se hidroliza proveniente del colágeno, extraído por un hidrolizado de gelatina de farmacia, puede utilizarse enzimas permitidas en el FDA (U.S. Food and Drug Administration) como elemento curativo de potente beneficio para la curación de enfermedades tales como la osteoporosis, como también de la osteoartritis (Moskowitz, 2000). La proteína al hidrolizarla es capaz de mejorar diferentes propiedades funcionales, como pueden ser la dispersión, capacidad de agitación, viscosidad, y solubilidad, propiedades que aportan beneficios en la aplicación en diversos artículos en el rubro de alimentos a comparación de proteínas nativas (Benítez et al., 2008). Por otro lado, para mejorar la biodisponibilidad de una proteína, ésta debe ser hidrolizada, también cuando se produce el hidrolisis se obtienen diversos péptidos que tienen poder bioactivo las cuales tienen repercusiones en diversos desempeños fisiológicos del cuerpo (Gómez-Guillén et al., 2011).

También, está detallado que del consumo del colágeno beneficia diversos trabajos internos en el cuerpo, brindando consecuencias benéficas en el crecimiento de las uñas y sus atributos en el cabello, también efectos muy beneficiosos en los tendones y huesos que ayudan a mejorar al consumidor tanto internamente como externamente, mejorando de una manera progresiva la salud de la persona (Matsuda et al., 2006). Hasta la actualidad, han sido descubiertos péptidos e hidrolizados peptídicos obtenidos a partir de colágeno con función anticancerígena, antioxidante y antihipertensiva (Byun & Kim, 2001; Gómez-Guillén et al., 2009; Alemán et al.)

Se cuenta con investigaciones relacionadas, siendo las más importantes como es para Olvera (2013), la principal materia prima que se usa a nivel industrial para elaborar el colágeno es resto debido a esto algunos países no lo consumen debido a sus creencias o por su salud por eso se buscó una nueva opción para que este sector de la población pueda beneficiarse de este producto. Para Almeida, et al (2012) las extremidades de los pollos son altamente desechados debido a cuestiones sociales y gastronómicas, debido a esto esta materia prima es de fácil acceso y de bajo costo para la extracción de colágeno a comparación de la obtenida a partir de desechos vacunos y porcinos, ya que son de alta demanda para obtener este producto lo cual ocasiona que su costo sea superior. Por las razones antes mencionadas se comenzaron a buscar otro tipo de fuentes como materia prima para la elaboración del colágeno, como lo son las extremidades de pollo.

La principal fuente de extracción del colágeno es de cerdos y reses, en últimos años el sector de la ciencia comenzó a buscar diferentes opciones para la obtención de este producto, a causa que por creencias religiosas y por miedo a ciertas enfermedades de estos animales que son transmisibles al ser humano mediante su consumo, por ejemplo, la aparición de fiebre aftosa (FA) y encefalopatía espongiiforme bovina (EEB) dejan un espacio en el mercado consumidos aun no satisfecho. Últimamente, el colágeno obtenido a partir de extremidades de pollo es mayor estudiado debido a su fácil obtención y a su bajo costos, lo que afectaría benéficamente en el precio del producto final. Actualmente en los mercados de Colombia se ofrece colágeno extraído de materia prima bovina y marina. En el caso del primero, el colágeno es elaborado y comercializado por laboratorios del país mencionado, a comparación del segundo que es importado de países como Alemania, Japón, Países Bajos, Francia y Canadá. En la etapa del corte y separación de la pulpa del pescado se origina desperdicios como las escamas, vísceras y espinas, lo cual genera un significativo impacto en el ambiente. En la gran mayoría de los trabajos se observa que su materia prima son peces

de agua salada, es por lo cual que el objetivo es desarrollar más trabajos a partir de peces de agua dulce o criados mediante acuicultura, que tienen como una de sus características poseen una mayor estabilidad en su temperatura, como es en el caso de la tilapia roja. Además, no se han hallado trabajos que califiquen y mejore las consecuencias de las variables de la elaboración del colágeno en el rescate del colágeno ácido que se puede disolver en subproductos de la tilapia roja obtenida de sus diferentes partes de su cuerpo. Como principal objetivo que tiene este trabajo es mejorar la obtención del colágeno por un medio ácido soluble a partir de los desechos, como son las escamas, la piel y espinas de la Tilapia roja (*Oreochromis spp*), con base a la concentración del agente y temperatura que hidrolizará el colágeno (Zapata, 2016).

Para Gaona (2011), en la actualidad el colágeno toma un papel muy importante en el área de biomateriales, así como materiales médicos. El biomaterial es un elemento, sustancia o la combinación de ambos, obtenidos de manera natural también sintético, estos pueden ser usados para poder sustituir de manera incompleta o completamente una propiedad de ciertas partes que tiene el organismo de la persona, además ha llegado a descubrir que es capaz de desarrollar una función específica y adaptarse al cuerpo del ser humano. Los biomateriales usados generalmente por ejemplo son componentes biológicos, cerámicos, polímeros y aleaciones metálicas. En los componentes biológicos, se tiene al colágeno el cual ha llegado a estar entre los más vendidos y usados. Los biomateriales se convirtieron en una parte muy esencial en la ingeniería de los tejidos, debido a que en este sector son los más usados para la reconstrucción o tratamiento de algunas partes del cuerpo. Por eso es que se comenzaron a realizar diversos tipos de estudios con el objetivo de comprobar el nivel de aplicación que posee el colágeno para servir para ingeniería de tejidos como biomateriales. Han comprobado utilidades del colágeno en “scaffold”¹ en el progreso de la ingeniería de tejidos cardiovascular, ésta posee como característica el aceptar una adhesión a nivel de las células y también de aumentar las células propias del tejido que se desea su recuperación. Así mismo, se usa de biomaterial a las esponjas a base de colágeno, debido a que estas son biodegradables, son usadas en prótesis que permite la reconstrucción de nervios, como en la implantación de tejidos conectivos que se encuentran localizados en los huesos, así también en apósitos que serán empleadas en la curación de heridas. Es usado en ingenierías, tanto en la de tejido óseo como de cartílago.

Para Jordán (2014), cuando al colágeno se procede a hidrolizar de manera parcial se obtiene como resultado la gelatina. Para poder obtener una mayor solubilidad en el colágeno se debe

proceder a romper los puentes de hidrogeno como también son enlaces de tipo hidrofóbico, al momento de este corte en las cadenas de triple hélice que conforman al colágeno se desenredarán y las moléculas se convertirán en componentes de menor tamaño. El peso molecular del colágeno es superior al de la gelatina que está formada por cadenas polipeptídicas, también el tipo y el procedimiento que se emplea para la extracción del colágeno hará variar el peso molecular desde ~10 hasta los ~300 kDa. Se formarán redes tridimensionales cuando las cadenas que tienen un alto nivel de solubilidad que conforman a la gelatina estén expuestas a temperaturas bajas, de esta manera las cadenas de la gelatina tenderán a regresar a la estructura de colágeno que tenía antes de la hidrólisis parcial. Tanto la estabilidad de la temperatura como la fuerza de gel dependerá de la extensión que tienen la formación de los enlaces en la gelatina y también del entrecruzamiento de su red. Estas son las características que servirán como indicadores primordiales que servirán para evaluar si una gelatina es de buena calidad.

Por otro lado, la gelatina se produce a partir de la hidrólisis parcial del colágeno. Es una proteína soluble en agua con capacidad de formar geles termorreversibles. La aplicación tecno-funcional de la gelatina es mucho más heterogénea que la del colágeno, relacionándose principalmente con sus propiedades fisicoquímicas, térmicas y reológicas, que a su vez están estrechamente relacionadas con el contenido de aminoácidos como prolina e hidroxiprolina. Normalmente la gelatina industrial extraída a partir de especies marinas se ve condicionado, principalmente porque experimenta temperaturas de gelificación (T_g) y fusión (T_m) menores que la gelatina de mamíferos terrestres ($T_g < 30\text{ }^\circ\text{C}$); aunque, estas características no son estables, debido a que depende de diferentes elementos como son la especie de pez, método que se usara para la extracción (Guerra, et al, 2013).

Para Lara, (2013), cuando el colágeno no es tratado es atacado por la enzima pepsina, pero la tripsina no la puede atacar. Al contrario de la gelatina, esta puede ser digerida por proteolíticos fermentados. En procesamientos como el pelambre de los animales se le añade hidróxido de calcio y además sulfuro de sodio, debido a que se busca impedir el trastorno en el animal para obtener valor de 12 a 14 como pH, los cuales son neutros o deben aproximarse a éste. La alta basicidad es causada por el exceso de calcio y sal que no se han disuelto. A causa de esto es necesario agregar una solución de pH ácido que puede ser ácido sulfúrico concentrado a razón de 5g/100g de la carnada, esto evitará que se pudra y ayudará en la conservación del producto en un periodo aproximado de 7 días.

Para Lorente (2006), el nivel de dureza brindada por el colágeno varía según la cantidad y del grado que posee de entrecruzamiento. Con el avance de los años los enlaces covalentes van en aumento en las fibras que posee el colágeno. En los animales en su etapa de juventud los enlaces covalentes que poseen son reducibles, al pasar de los años esta característica se va perdiendo. Los entrecruzamientos que poseen estos enlaces covalentes proporcionan una mayor estabilidad y de esta manera causan la disminución de la solubilidad que puede tener el colágeno. El colágeno obtenido a partir de la materia prima del conejo posee un gran porcentaje solubilidad que a comparación de otros tipos de fuentes que evidenciaron que la característica de la edad en la cantidad obtenida de colágeno y el grado de entrecruzamiento en el conejo, otorgando al colágeno de conejo que a mayor edad de éste. mayores valores son las variables antes mencionadas.

Para Escobar (2011) desde el entorno nutricional vio que el colágeno y en mayor significancia la gelatina, no están correctamente equilibradas en la composición de sus aminoácidos. En el colágeno el triptófano es deficiente, y aún más en la gelatina presenta una carencia de éste debido a que lo poco que contenía se va perdiendo en la preparación. El nivel de facilidad en el cual se logra proteolizar La facilidad con la que se proteoliza varía según su estado. El colágeno nativo es bastante resistente a la proteólisis por parte de la mayoría de las proteinasas, mientras que el colágeno desnaturalizado se hidroliza fácilmente. La diferencia de triptófano en el colágeno requiere suplir su ausencia consumiendo alimentos ricos en este, como lo son los huevos, la leche, el chocolate, el maní, etc. que son alimentos que se incluyen fácilmente en la alimentación.

El colágeno es la proteína que está presente en la mayor parte del cuerpo de los vertebrados es tal vez el colágeno. La molécula del colágeno está compuesta por tres cadenas polipeptídicas helicoidales llamadas cadenas α que esta formadas por 1000 aminoácidos aprox. Al momento de que las cadenas de enrollan van formando una triple hélice que permanecen así a través de puentes de hidrógenos los cuales son intermoleculares. Hasta la actualidad hay encontrados 46 diferentes cadenas enlaces polipeptídicos en vertebrados, que a su vez componen 28 tipos de colágenos diferentes. Los tipos de los colágenos tienen diversos objetivos específicos en las diferentes partes del organismo como en los tejidos y órganos y diferentes tipos de organización supramolecular. Los que se presentan en una mayor cantidad se encargan de formar la base estructural de partes del cuerpo como la piel, tendones y cartílagos, entre otros, los colágenos tipo I, II y III están en mayor cantidad

presentes en el organismo, entre los cuales el tipo I es el que se encuentra en mayor proporcionalidad en muchos animales (Jordán, 2014).

La función principal del colágeno es dar al organismo el soporte o protección para los órganos que se están formando o los tejidos, que son encargados de la firmeza, el nivel de elasticidad, la integridad de las estructuras como de la hidratación del organismo, entre otras funciones (Núñez, 2011).

El colágeno se divide en tres tipos y dentro de ellos existen grupos, el primer tipo son los colágenos fibrilares dentro de este está el grupo I, II, III, V y XI, el siguiente son los colágenos no fibrilares se encuentran los grupos IV, VI, VII y VIII y finalmente están los colágenos de cadena corta perteneciendo los grupos IX, XII y XIV. (Ver Anexo 4)

El contenido de colágeno en especies pecuarias en la actualidad no tiene muchas averiguaciones sobre el total de colágeno y la solubilidad del colágeno de origen porcino, en trabajos realizados hallaron que a los 105 días de vida de un cerdo tiene una totalidad de colágeno de 17 mg / g (referente al músculo que está secado), parecido al estudiado del *Longissimus lumborum* del porcino (17 mg/g), a los 52 días de vida del pollo de *pectoralis* se obtiene un total por gramo de 20 mg, pero, la carne de conejo es la que presenta mayor colágeno soluble ($75.3 \pm 8.1\%$), que en las otras especies *Longissimus lumborum* de cerdo (17%), *pectoralis* de pollo (26%) y en *Longissimus lumborum* de bovina (19%) (Castelán, 2006).

La estructura química del colágeno inicia con el tropocolágeno que es una molécula que forma parte de la fibra del colágeno (en la actualidad se denomina monómero de colágeno). Este tropocolágeno posee la estructura de una vara de diámetro 1.5 nm y 300 nm de longitud. Dicho monómero de colágeno está estructurado en base a tres hélices las cuales son polipeptídicas levógiras (cadenas α), siendo mil residuos aproximadamente cada una, entrecruzadas creando una superhélice dextrógira (Figura 1). Como las superhélices de tropocolágeno y la hélice polipeptídica están enrolladas en direcciones contrarias, la superhélice se encarga de evitar el desenrollamiento de las tres cadenas polipeptídicas. Al igual que en un puente colgante se emplean cables de acero entrelazados se necesita que la fibra empleada sea leve y resistente (Lugo, 2006).

Según Escobar (2011), las aplicaciones del colágeno como materia prima son diversas en el sector de la industria, tales como en la farmacéutica (para cubrir las pastillas, también son usados en el material para elaborar cápsulas), cosmetología (usados para mejorar los beneficios de brindar resistencia a fibras del cuerpo, aportando una mejor elasticidad en el

cabello y piel. Se encuentran por ejemplo en cremas. Tratamientos para el cabello, shampoo, entre otros), producción de gelatina (Huesos, cortes o recortes de piel de res, está formado en su mayor parte por colágeno y es una materia prima excelente para la producción de gelatina) y en aditivos para embutidos (Puede estabilizar lípidos y tiene la propiedad que acumular agua y a su vez ligarla. Reduce expulsión de humedad en la operación de cocido. Evita o disminuye el líquido libre (sinéresis) en el producto final. Tiene una elevada cantidad de proteínas, al final gracias a esto el nivel proteico es mejor, por el poder gelificante).

La hidrólisis según la ACE (EC 3.4.15.1) actúa en el sistema renina-angiotensina, hidrolizando la angiotensina-I, deca péptido inactivo, de secuencia DNVYIHPFHL, producido por la acción de la renina. El hidrolizado de una sustancia conlleva al libramiento de angiotensina-II y el dipéptido C-terminal Hys-Leu. Como sustancia con alto nivel vasoconstrictora es la angiotensina-II. La presión arterial sufre de un aumento debido a que las arteriolas tienen mayor contracción. Provoca la excreción de potasio, retención de agua y retención de sodio, es provocado por las glándulas suprarrenales que emanan la hormona aldosterona. La retención de líquidos causa que el aumento del volumen extracelular lo que conlleva a la elevación de la presión sanguínea y anulación de que la renina sea segregada. La ACE trabaja consecutivamente en el sistema quinina-caliceína, catalizando la degradación de las bradiquininas, compuestos de potente acción vasodilatadora. Esta acción favorece el incremento de la presión arterial (Ledesma, 2002). Existen diferentes tipos de hidrólisis, en primer lugar, está la hidrólisis ácida la cual es el proceso en el que se emplea catalizadores ácidos, los cuales convierte a la cadena de polisacáridos que da lugar a una biomasa (celulosa y hemicelulosa) en los monómeros principales. La hidrólisis ácida de los materiales lignocelulósicos es un proceso conocido desde 1819, llegó al auge en la época de las guerras mundiales, en aquellos tiempos se llegó a que el petróleo escaseara y así, para poder lograr elaborar etano se reemplaza por la madera. Pero por motivos de costos se dejaron de realizar este tipo de proceso. Para realizar el hidrolizado se usó diversos ácidos, por ejemplo, el ácido fórmico, nítrico, fosfórico, clorhídrico y sulfuroso. A nivel industrial se emplean el sulfúrico y clorhídrico (Domínguez, 2003), también existe la hidrólisis enzimática en donde se debe tratar la biomasa antes de que se realice el hidrolisis enzimático ya que esto favorece la entrada a la enzima para los centros de reacción. Se realiza un pre hidrolisis con ácido disuelto para que luego se realice la hidrolisis enzimática. La hidrolisis ácida es parecida a este tratamiento y como siguiente fase para la celulosa se hidroliza con enzima (celulasa). Debido a que las características para esta fase son leves no se obtienen

productos de degradación y su fermentación no se impide. El problema de esta operación es la cantidad que deben emplearse de celulasa, el cual aumenta los costos de elaboración, e incluso su obtención puede ser la etapa limitante (Pulido, 2003). Finalmente, está la hidrólisis alcalina de residuos biomásicos en la cual la cantidad de lignina en materiales ayuda a mejorar la eficiencia, además es el agregar a la biomasa bases disueltas. Para lograr una ruptura en la estructura del carbohidrato y lignina, debe existir un aumento en la superficie que esta al interior para reducir la celulosa su cristalinidad y de la polimerización su grado, empleando hidróxido de sodio disuelto para que tenga un efecto de hinchamiento. Una suposición del proceso para que la biomasa tenga una hidrolisis alcalina es en base a saponificar en enlaces ésteres que sean dentro de las moléculas que van a unir a xilanos provenientes de hemicelulosa y otros compuestos, por ejemplo componentes de la hemicelulosa y lignina. La lignina que presente en los materiales que se tratarán define su efectividad. Investigaciones previas dan a conocer que hay un aumento de 14% a 55% de digestibilidad cuando las maderas que son firmes se aplica hidróxido de sodio que removerá de 24% a 55% la lignina, teniendo al comienzo 20%. Este método no tiene el mismo efecto en la madera blanda debido a que su nivel de lignina es superior a 26%. Cuando la lignina es rota da lugar a que se disuelva, iniciando con la fragmentación de los enlaces α -arileter y arilgliceron- β -aril- éter (Cajas, 2013).

Los microorganismos eficaces (EM) es una unidad viva. Debido a que es una sustancia que está conformada por microorganismos anaeróbicos y aeróbicos los cuales son beneficiosos, y realizan una función distinta según la necesidad (Higa y Parr, 1994). Esta tecnología lo desarrolló el japonés Teruo Higa. En la actualidad los microorganismos eficaces EM-1 son empleados en más de 120 países. Se inició se buscó reemplazar fertilizantes sintéticos y pesticidas a una manera orgánica, en la actualidad se expandió al tratamiento de efluentes, en la industria alimentaria, en la salud, entre otros. Los laboratorios alrededor del mundo cada día buscan nuevas maneras de empleabilidad y nuevos beneficios. Estos microorganismos son naturales debido a que no son genéticamente modificados, su uno no tiene consecuencias nocivas ni patógenos y tampoco son sintetizados de manera química como por ejemplo las bacterias acidolácticas y levaduras (<http://www.em-la.com>). La función de los microorganismos eficaces es aumentar la rapidez de rompimientos de elementos como fibras, grasas, azúcares y proteínas, de esta manera el proceso para descomponer la materia orgánica se acelera. Además, estos microorganismos laboran de dos maneras, en primer lugar, para la separación competitiva de algunos microorganismos

peligrosos y, en segundo lugar, para la elaboración de subproductos benéficos que fomenta el cuidado del medio ambiente por ejemplo antioxidantes, hormonas, aminoácidos, ácidos orgánicos y enzimas (<http://www.em-la.com>). Su composición posee tres diferentes elementos que posee esta sustancia combinada de microorganismos que son eficaces, los cuales se tratarán a continuación:

Las levaduras son las que sintetizan aminoácidos, azúcares y otras sustancias que son segregados por la fotosíntesis. Las bacterias presentes en las levaduras son: *Mucor hiemalis*, *Aspergillus oryzae*, Hongos, *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae*. En el caso de las bacterias ácido lácticas tienen como principal objetivo el producir ácido láctico, eliminando microorganismos peligrosos. Estas bacterias son primordiales, debido a que son éstas las que realizan la fermentación y también la descomposición de materias orgánicas (Sangakkara, 1999). Según Valle (2004), algunas de las bacterias son: *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, finalmente las bacterias fototróficas tienen como fuente de energía para desarrollar la fotosíntesis la luz solar y el calor que posee el suelo. El principal objetivo es de ayudar en la síntesis de elementos benéficos para la planta, por ejemplo: ácidos nucleicos, aminoácidos, entre otros (Sangakkara, 1999). Se dividen en dos: *Rhodospseudomonas palustris*, *Rhodobacter lactis*.

De acuerdo a lo descrito anteriormente se planteó el siguiente problema, ¿Cuáles son las características fisicoquímicas del colágeno hidrolizado Tipo I obtenido de extremidades de pollo (*Gallus gallus domesticus*) extraído con microorganismos eficaces EM-1? En la actualidad el colágeno se ha convertido en el más popular para ser consumido para el mejoramiento de la salud y la apariencia de las personas, pero ¿Quién sabe que es realmente el colágeno? Pues el colágeno es una proteína que estructura diversas partes del organismo humano y este se divide en pequeñas partes a las que se les denomina aminoácidos. Cuando estos aminoácidos se juntan forman estructuras muy resistentes que van formando todo el cuerpo. El colágeno es la proteína que se encuentra en mayor cantidad en el organismo (30%). Esta fibra que es formada es resistente, pero no se puede consumir, debido a esto se origina una duda en los consumidores, debido a que ellos piensan que no es digerible cuando se consume. El presente trabajo de investigación surge como idea a la industrialización del colágeno por las grandes empresas, cuyo uso frecuente es en la elaboración de productos cosméticos de toda variedad, productos farmacéuticos y hasta aditivos alimenticios. Elaborar un producto a base de colágeno ayuda a usar y sacarle beneficio a los restos pecuarios (huesos, escamas, pieles, etc.), y evitar el desecho o quema de estos residuos que contaminan

el medio ambiente, sería beneficioso darles un uso a esos residuos pecuarios y así ayudaría a la conservación de un mejor medio ambiente. Este trabajo de investigación busca un método de extracción para que el colágeno pueda ser absorbido, y para esto se debe realizar una hidrólisis del colágeno, esto ayuda a que las cadenas se rompan y se puedan absorber un 90% debido a que se convierten en moléculas. Cualquiera sea su presentación, el colágeno debe estar hidrolizado, debido a que si esto no sucede no aportará ningún beneficio al organismo a que se absorberá solo el 1% al contrario del hidrolizado. Se planteó como objetivo general caracterizar fisicoquímicamente el colágeno hidrolizado Tipo I obtenido de extremidades de pollo (*Gallus Gallus Domesticus*) extraído con microorganismos eficaces EM-1 y como sus respectivos objetivos específicos en primer lugar es obtener colágeno hidrolizado a partir de extremidades de pollo extraído con microorganismos eficaces EM-1 y como segundo objetivo específico es determinar las características fisicoquímicas (pH, proteínas totales, grasa cruda y humedad) del colágeno hidrolizado Tipo I obtenido de extremidades de pollo (*Gallus Gallus Domesticus*) extraído con microorganismos eficaces EM-1.

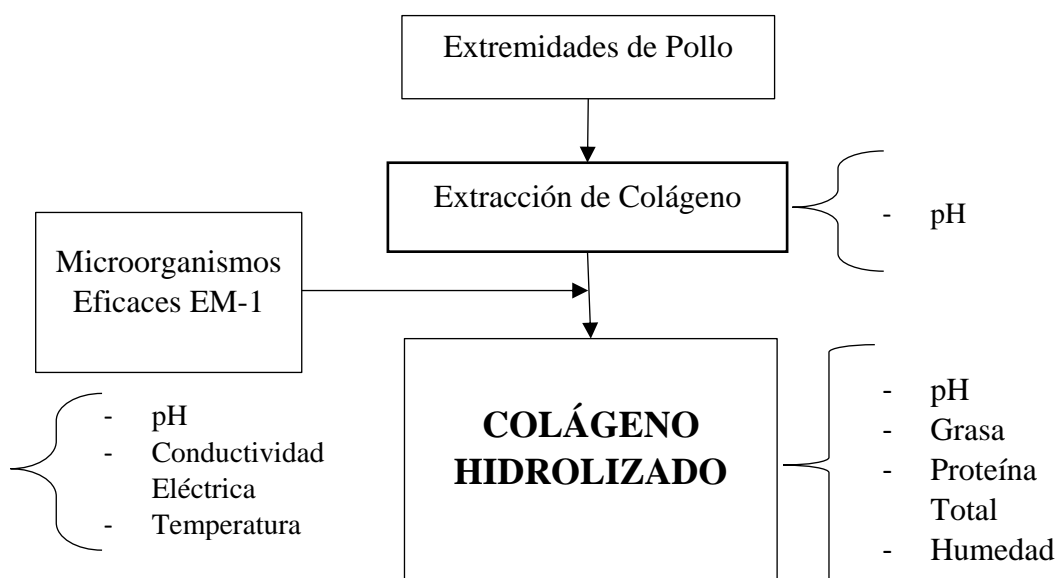
II. MÉTODO

2.1. Tipo y diseño de investigación

2.1.1. Diseño Experimental:

Para la realización del proyecto se utilizaron extremidades de pollo, en el cual se realizó un seguimiento al proceso de hidrolisis aplicando microorganismos eficaces EM-1 obteniendo tres repeticiones de la muestra, este trabajo se realizó durante el semestre del 2019-I, el proyecto se llevó a cabo en el laboratorio de procesos industriales de la UCV - Moche de la escuela de Ingeniería Industrial. Esta tesis se encontró dentro de la modalidad de investigación cuantitativa porque las variables que se evaluaron fueron medidas mediante la toma de datos numéricos y además se determinaron las características de un colágeno hidrolizado.

2.1.2. Esquema Experimental:



2.2. Operacionalización de variables:

VARIABLE		DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICION	
DEPENDIENTES	Características Físicoquímicas	Humedad	Es el agua que contienen los alimentos, en algunos casos se puede hallar en mayor o menor cantidad. Existen dos tipos de agua presente, una de ellas es la ligada (en las proteínas) y el agua libre (puede ser fácilmente extraída y está en mayor proporción).	Se pesó una muestra la cual se colocó en la estufa para determinar su peso final. Estos datos se aplicaron en una fórmula.	%	Cuantitativa
		pH	El nivel más conveniente para los microorganismos del sustrato debe estar entre 6 y 7.5. Los valores extremos inhiben la actividad microbial.	Se basó en la obtención de un extracto acuoso para su medida del pH	pH	Razón
		Proteína Total	Son cadenas formadas por aminoácidos unidos con enlaces peptídicos. Es el componente más abundante en el organismo, se encuentra formando parte de huesos, cartílagos, tendones, cabello, uñas, etc.	Se tomó una muestra la cual pasó por tres etapas: destilación, titulación y digestión.	%	Cuantitativa

		% Grasa	Es la grasa que posee un alimento mediante un análisis químico proximal.	El método comprende cuatro etapas en primer lugar la vaporización de la muestra seguido de la condensación de la misma, luego se realizó una extracción y finalmente la evacuación por el sifón.	%	Cuantitativa
--	--	----------------	--	--	---	--------------

2.3. Población, muestra y muestreo

2.3.1. Población:

Las extremidades de pollo fueron obtenidas de los mercados que se encuentran en Trujillo.

2.3.2. Muestra:

Se utilizó una muestra de 360 gramos de extremidades de pollo para la obtención del colágeno hidrolizado.

2.3.3. Muestreo:

Se realizó un muestreo aleatorio no probalístico por conveniencia del investigador, verificando los criterios de evaluación.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

2.4.1. Técnicas

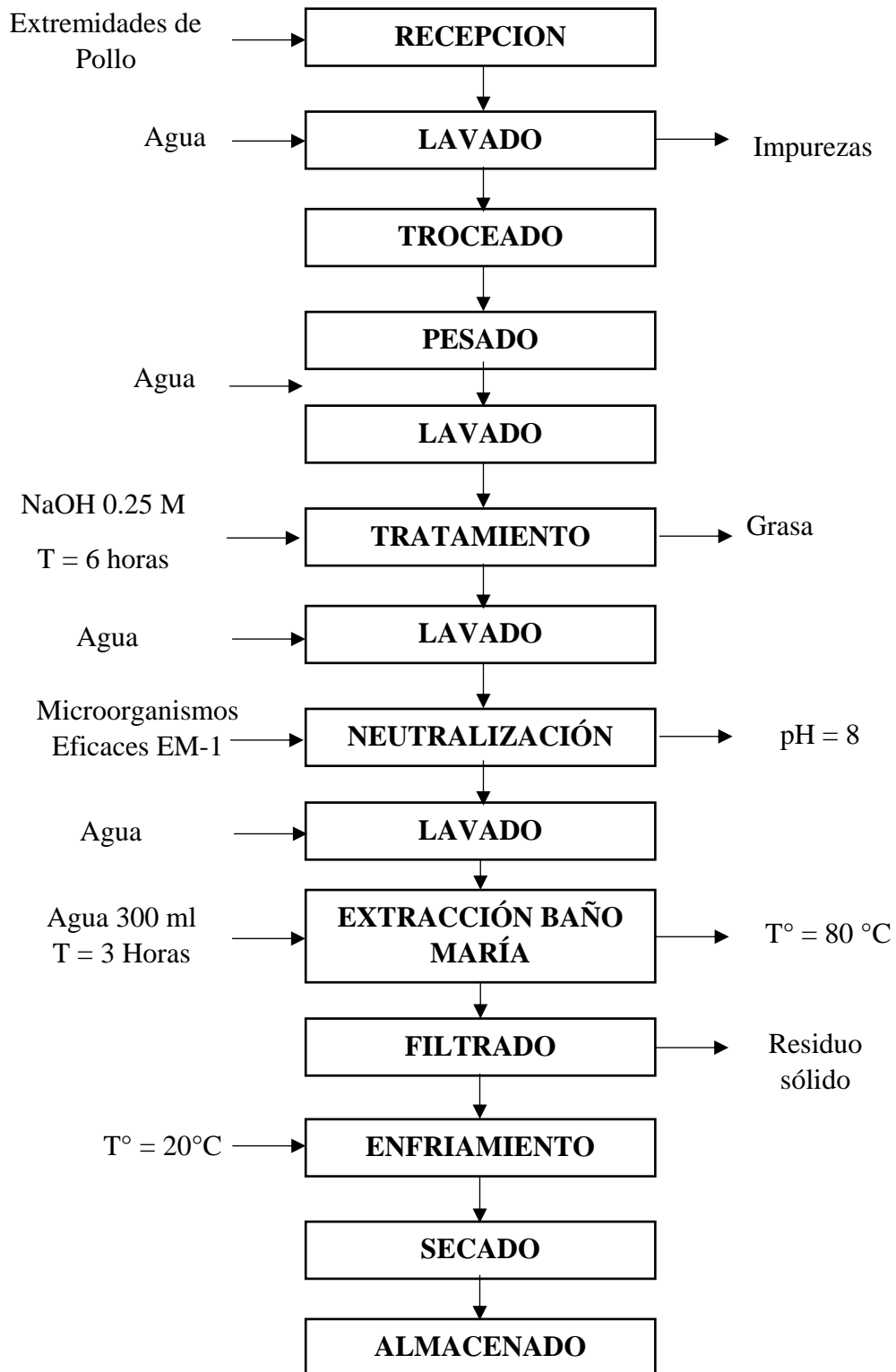
- 2.4.1.1. Ph:** Se realizó la determinación de este parámetro en cada una de los tratamientos experimentales, utilizando un PH metro digital (ANEXO 2).
- 2.4.1.2. Humedad:** Se determinó mediante el método gravimétrico.
- 2.4.1.3. Proteína Total:** Se determinó por el método Kjeldahl.
- 2.4.1.4. Grasa Cruda:** Se aplicó el método Soxhlet.

2.4.2. Instrumentos

- 2.4.2.1. pH:** pH-metro
- 2.4.2.2. Humedad:** Estufa
- 2.4.2.3. Proteína Total:** Equipo Kjeldahl (Digestor, destilador, titulador)
- 2.4.2.4. Grasa Cruda:** Equipo Soxhlet (Cartucho, tubo refrigerante, tubo Soxhlet, matraz fondo plano, calentador y sifón)

2.5. Procedimiento

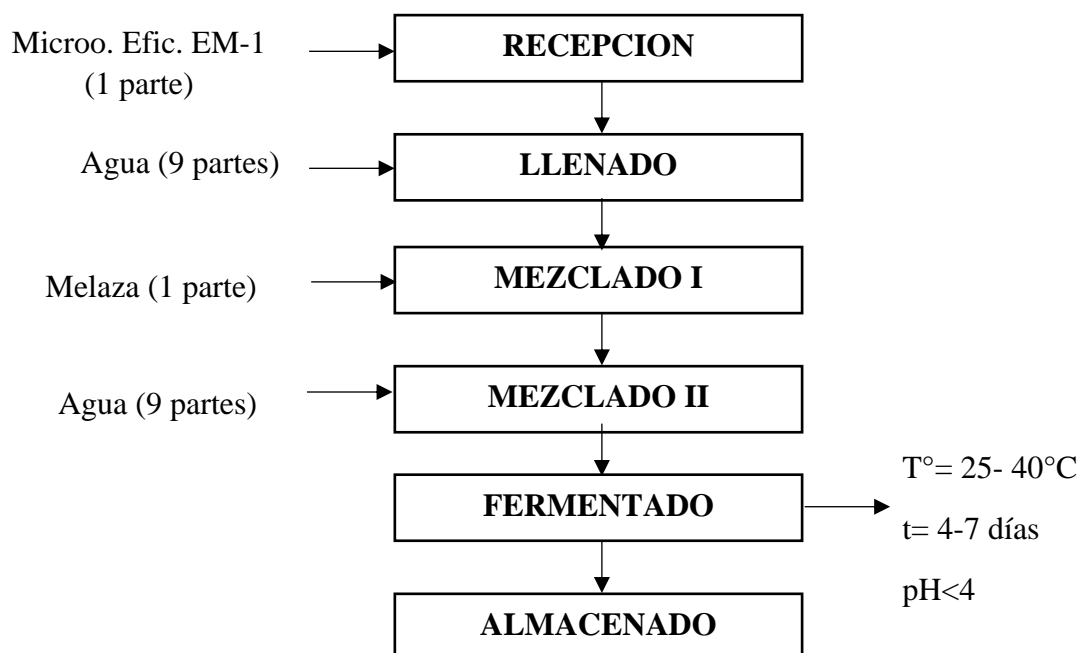
Diagrama de Flujo Proceso de Extracción De Colágeno Hidrolizado a partir de Extremidades de Pollo:



Descripción de las Etapas del Proceso de extracción de Colágeno Hidrolizado

- a. Recepción: Se extrajeron las extremidades de pollo, verificando que estén en óptimas condiciones para ser procesadas.
- b. Lavado: Una vez recepcionadas, las extremidades de pollo, se sometieron a un lavado para retirar las impurezas en su totalidad.
- c. Troceado: Se procedió a triturar las extremidades de pollo en partes pequeñas para la fácil extracción del colágeno.
- d. Tratamiento I: Una vez libre de impurezas, se colocaron las extremidades de pollo en un recipiente con NaOH de 0.25 M por un tiempo de 6 horas. Se procedió a tapar los matraces
- e. Neutralización: Se añadió los microorganismos eficaces EM-1 activado hasta llegar a un pH 8.
- f. Extracción por baño María: En un matraz se agregó la muestra previamente lavada y se le añadió 300 ml de agua a una T° constante de 80 °C por un tiempo de 3 horas.
- g. Filtración: Se empleó una gasa para evitar el paso de residuos sólidos.
- h. Enfriamiento: En una fuente se colocó el colágeno hasta que su temperatura baje a 20 °C.
- i. Secado: Las muestras se llevaron a un proceso de liofilización el laboratorio de procesos agroindustriales de la UNT para su secado y posterior molienda para obtener el colágeno en polvo.

Diagrama de flujo de activación de Microorganismos Eficaces EM-1



Descripción de las Etapas del Proceso de Activación de los Microorganismos Eficaces

EM-1

- a. Recepción: Se midió la cantidad deseada de los microorganismos eficaces que se activarán
- b. Llenado: En un recipiente se llenó 9 partes de agua limpia (sin cloro)
- c. Mezclado I: Se colocó 1 parte de los microorganismos eficaces con una parte de melaza de caña o azúcar. Se agitó hasta formar una mezcla homogénea
- d. Mezclado II: Se agregó las otras 9 partes de agua limpia (sin cloro) y se procedió a cerrar de manera hermética evitando de esta manera el ingreso de aire al recipiente.
- e. Fermentado: Se mantuvo en un lugar a T° cálida o caliente entre 25 – 40 °C, por 4 a 7 días de fermentación. Al segundo día de fermentación se generaron gases los cuales fueron retirados con cuidado levantando levemente la tapa del recipiente, esta operación se realizó las veces que fueron convenientes para expulsar los gases de la fermentación.
- f. Almacenado: A partir del cuarto a séptimo día los microorganismos estuvieron activados, el pH debió ser inferior a los 4.0, emanó un olor agridulce y tuvo un cambio de color de café oscuro a café anaranjado.

2.6. Métodos de Análisis de Datos

El análisis de varianza (ANOVA) es una potente herramienta estadística de gran utilidad en la industria para el control de procesos y para el control de métodos analíticos. Se utiliza cuando pueda interesar comparar diversas medidas obtenidas en un estudio aleatorio. Una vez que se aplica ANOVA se puede deducir si cada factor o una interacción de ellos tienen influencia significativa en el resultado.

Los datos fueron sometidos al siguiente análisis estadísticos.

- Análisis de la varianza ANOVA

2.7. Aspectos Éticos

Los resultados que se evaluaron en la investigación, así como la veracidad de los mismos, se garantiza plenamente mediante la utilización de investigaciones realizadas por otros autores citados a lo largo del proyecto.

III. RESULTADOS

De acuerdo a la metodología establecida se obtuvieron los resultados que se presentan a continuación:

Tabla 1: Caracterización de Microorganismos EM-1 Activado

Característica	Valores
pH	3.46
Conductividad Eléctrica	27.8 ms
Temperatura	28.2 °C
Color	Marrón Amarillento
Olor	Agradable

Las características evaluadas en los microorganismos eficaces EM-1 se presentan en tabla 1 en la cual se obtuvo el valor del pH de 3.46 el cual está dentro del rango de aceptación siendo el máximo valor de 4 según ficha técnica de AmbiEM, la medición de la conductividad eléctrica de la muestra dio como resultado 28.2 ms, la temperatura en la cual se activaron los microorganismos fue de 28.2 °C, según las investigaciones encontradas la solución debe mantenerse en temperatura ambiente o en un promedio de 25 a 40°C. Las características organolépticas que se evaluaron fueron en primer lugar el olor siendo este agradable al olfato y su color marrón amarillento cumpliendo estos parámetros en comparación con información hallada.

Tabla 2. Característica fisicoquímica (pH) del colágeno hidrolizado obtenido de extremidades de pollo

Muestra	Repetición	pH	Promedio	Desviación Estándar
M1	R1	8.2	8.2	0.2
	R2	8		
	R3	8.4		

En la operación de neutralización de uso microorganismos eficaces EM activado hasta llegar a un pH de 8, al medir el pH obtenido de las tres repeticiones R1, R2 y R3 de colágeno hidrolizado obtenido de extremidades de pollo dieron como resultado 8.2, 8 y 8.4 respectivamente, con promedio de 8.2, siendo la variabilidad del pH respecto al promedio es 0.2.

Tabla 3. Característica fisicoquímica (% Humedad) del colágeno hidrolizado obtenido de extremidades de pollo

Muestra	Repetición	% Humedad	Promedio	Desviación Estándar
M1	R1	13	14.17	1.04
	R2	15		
	R3	14.5		

En la tabla 3 se puede observar los resultados obtenidos al evaluar el porcentaje de humedad, en la primera repetición R1 tiene 13% de humedad, en la segunda repetición R2 dio como resultado 15% y finalmente R3 posee un 14.5% de humedad. El promedio obtenido de las tres muestras es de 14.17, y la variabilidad del porcentaje de humedad respecto al promedio es 1.04.

Tabla 4. Característica fisicoquímica (% Proteínas) del colágeno hidrolizado obtenido de extremidades de pollo

Muestra	Repetición	% Proteínas	Promedio	Desviación Estándar
M1	R1	6.4	6.39	0.02
	R2	6.38		
	R3	6.41		

El porcentaje de proteínas del colágeno hidrolizado obtenido de las tres repeticiones (R1, R2 y R3) de la muestra de colágeno hidrolizado obtenido de extremidades de pollo dio valores similares, siendo estos en R1 de 6.4, 6.38 en R2 y finalmente R3 con 6.41. El

porcentaje de proteínas promedio es de 6.39 con una variabilidad respecto al promedio de 0.02.

Tabla 5. Característica fisicoquímica (% Grasas) del colágeno hidrolizado obtenido de extremidades de pollo

Muestra	Repetición	% Grasas	Promedio	Desviación Estándar
M1	R1	1.43	1.41	0.03
	R2	1.41		
	R3	1.38		

Se midió el porcentaje de grasas de las tres repeticiones R1, R2 y R3 del colágeno hidrolizado obtenido de extremidades de pollo dando como resultados 1.43, 1.41 y 1.38 respectivamente los cuales son valores similares, obteniendo un promedio de 1.41 con variabilidad respecto a este de 0.03.

Tabla 6. Análisis de Varianza (ANOVA)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	249,820	3	83,273	296,293	,000
Dentro de grupos	2,248	8	,281		
Total	252,068	11			

En la tabla de análisis de varianza (ANOVA) dio como resultado que no existe diferencia significativa entre las repeticiones de la muestra de colágeno hidrolizado que han sido analizadas.

IV. DISCUSIÓN

El pH obtenido de las muestras dio como resultados 8.2, 8 y 8.4, estos valores se encuentran próximos al pH 8 obtenido por Claudio Mamani (2018), en el colágeno extraído de extremidades de pollo por hidrólisis alcalina, estas variaciones del pH son debidas al tipo de insumo empleado, siendo este el ácido acético, que realiza el proceso de neutralización en un tiempo aproximado de 1 – 2 horas, a comparación de los microorganismos eficaces usados en este trabajo de investigación, siendo su tiempo para neutralizar de 20 a 30 minutos, debido a esto su control debe ser continuo para no exceder el pH necesario para la neutralización.

Según Solari, A y Córdova, J (2015), la humedad del colágeno del pescado liofilizado es de 8 ± 2.8 % y para Lleren, T. y Rodríguez, W. (2017) en su trabajo de investigación obtuvieron resultados de humedad de 12.55%, a comparación de los resultados obtenidos del colágeno de extremidades de pollo expuesto al proceso de liofilización para su secado fue de 14.7 ± 1.04 % siendo este un valor superior al del colágeno de pescado, esto debe ser a la diferencia de las materias primas usadas y las condiciones en las cuales se extrajo el colágeno.

Para el porcentaje de proteínas se obtuvo como resultado 6.39 ± 0.02 de las muestras del colágeno obtenido de extremidades de pollo. Para Da Silva, Í. et. al (2018) el colágeno de pollo obtenido en su investigación tubo un porcentaje de proteínas (Nx6,25) de 77.59 ± 2.05 g/100 g, comparando ambos resultados se ve una diferencia de contenido de proteínas, la cantidad de proteínas contenido en un pollo es debido a su edad y la alimentación que le brindan en las granjas de crianza, esto determinará la calidad de la extremidad de pollo empleada en la producción del colágeno.

En el análisis de porcentaje de grasas obtenido para el colágeno de pollo fue de 1.41 ± 0.03 a comparación del valor obtenido por Mamani, C. (2018) fue de 2.24%, siendo este un resultado superior al obtenido experimentalmente, esto debe ser a la diferencia de la calidad del ave y a la variedad de esta, esto aporta al colágeno obtenido para su investigación proporciona baja cantidad de grasa para la salud del consumidor.

V. CONCLUSIONES

- Se obtuvo colágeno hidrolizado a partir de las extremidades de pollo (*Gallus Domesticus*) empleando en el proceso de extracción microorganismos eficaces EM-1.
- Se evaluaron características fisicoquímicas (pH, humedad, proteínas y grasas) de las 3 muestras de colágeno hidrolizado, obteniendo como resultado que no hubo diferencia significativa entre ellas.
- Como resultado se tiene que el colágeno hidrolizado posee un pH de 8.2, proteínas 6.39%, en grasas 1.41%, y finalmente una humedad de 14.17 como promedios de los análisis realizados a las tres repeticiones realizadas.
- Se caracterizó los microorganismos eficaces activados empleados en la extracción del colágeno con pH 3.46, con un color caramelo característico y olor dulce agradable al olfato.

VI. RECOMENDACIONES

- En la operación de hidrolisis el envase debe estar totalmente tapado para que no ingrese cualquier contaminante que altere el producto.
- Para la etapa de neutralización se debe controlar el pH constantemente debido a que el empleo de microorganismos eficaces acelera el proceso.
- Las características de los microorganismos eficaces activados varían según las condiciones en las cuales se están manipulando.

REFERENCIAS

Cajas, Fausto Javier Espinosa. 2013. Obtención De Etanol Mediante Hidrólisis Alcalina, Enzimática Y Fermentación A Partir Del Excedente Orgánico Del Banano Variedad Musa Paradisiaca. Universidad Central Del Ecuador. [En Línea] 2013. [Citado el: 10 de setiembre de 2018.] <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1821/1/T-UCE-0017-44.pdf>.

Castelan, Edgar Garrido. 2006. Efecto De Las Proteinas De La Piel De Cerdo Sobre La Textura De Salchichas. Instituto De Ciencias Agropecuarias. [En línea] Setiembre de 2006. [Citado el: 18 de setiembre de 2018.]

<http://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10927/Efecto%20de%20las%20proteinas%20de%20la%20piel%20de%20cerdo.pdf?sequence=1>.

Dominguez, José Miguel Oliva. 2003. Efecto De Los Productos De Degradación Originados En La Explosión Por Vapor De Biomasa De Chopo Sobre *Kluyveromyces Marxianus*. Universidad Complutense De Madrid. [En Línea] 2003. [Citado el: 10 de octubre de 2018.] <http://biblioteca.ucm.es/tesis/bio/ucm-t26833.pdf>. 84-669-1709-8.

Escobar, Lilian Alexandra Charry. 2011. Desarrollo De Un Producto Golosina A Base De Colágeno, Subproducto De La Industria Cárnica. Facultad De Ingeniería Y Ciencias Agropecuarias. [En línea] 2011. [Citado el: 12 de octubre de 2018.] dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/747/1/UDLA-EC-TIAG-2011-12.pdf.

Gaona, Jenifer Carolina Serrano. 2011. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachyomus*). [En línea] 2011. [Citado el: 22 de setiembre de 2018.] <http://www.bdigital.unal.edu.co/4880/1/jenifercarolinaserranogaona.2011.pdf>.

Guerra, Ramírez, Suárez, Ramírez Y Manzano, Mazorra. 2013. Propiedades Biológicas De Péptidos Derivados Del Colágeno De Organismos Marinos. Revista De Ciencias Biológicas Y De La Salud. [En Línea] 3 De Mayo De 2013. [Citado El: 15 De Setiembre De 2018.] <http://www.biocetnia.uson.mx/revistas/articulos/24-Articulo%206.pdf>.

Jordán, Mauricio Esteban Mosquera. 2014. Nanoencapsulación de hidrolizados peptídicos con actividades biológicas procedentes de subproductos de la pesca. [En línea] 2014. [Citado el: 25 de Setiembre de 2018.] <http://eprints.ucm.es/25118/1/T35312.pdf>.

Lara, José Luis Gutiérrez. 2013. “Efecto Del Tipo De Carnaza Sobre Las Propiedades Reológicas Del Licor De Gelatina Pura De Origen Bovino”. [En línea] 2013. [Citado el: 15 de octubre de 2018.]

<http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6499/1/AL%20518.pdf>.

Ledesma, Blanca Hernández. 2002. Caracterización Y Bioactividad De Péptidos Obtenidos A Partir De Proteínas Lácteas Mediante Hidrólisis Enzimática Y Procesos Fermentativos. Universidad Complutense De Madrid [En Línea] 2002. [Citado el: 10 de octubre de 2018.] <http://biblioteca.ucm.es/tesis/far/ucm-t26285.pdf>. 84-669-2033-1

Lorente, Beatriz Ariño. 2006. Variabilidad Genética De La Calidad De La Carne De Conejo. [En línea] 2006. [Citado el: 22 de setiembre de 2018.]

<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/5642/tesisUPV2479.pdf>.

Lugo, Patricia de Paz. 2006. Estimulación de la síntesis de colágeno en cultivos celulares. [En línea] 2006. [Citado el: 24 de setiembre de 2018.]

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/tesis/47720.pdf>. 978-84-338-4042-4.

Muñoz, María Inmaculada Hernández. 2007. Efecto Del Tnfa Sobre La Síntesis De Colágeno Y La Expresión Genética Del Procolágeno Genética Del Procolágeno A1 (I) En Lipocitos En Cultivo. [En línea] 2007. [Citado el: 25 de setiembre de 2018.] <http://biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/D/1/AD1015401.pdf>.

Navas, Juan Sebastián Ramírez. 2012. Análisis Sensorial: Pruebas Orientadas Al Consumidor. [En línea] 2012. [Citado el: 2 de Octubre de 2018.]

https://www.researchgate.net/profile/Juan_Ramirez-Navas/publication/257890512_Analisis_sensorial_pruebas_orientadas_al_consumidor/links/00b495260e24536e05000000/Analisis-sensorial-pruebas-orientadas-al-consumidor.pdf. 2027-6850.

Núñez, Mario Fabian Jordan. 2011. Obtención De Colágeno Por Hidrólisis Alcalina - Enzimática Del Residuo De Wet Blue En El Proceso De curtición. [En línea] 2011. [Citado el: 25 de Setiembre de 2018.]

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1630/1/236T0048.pdf>.

Olvera, Guido Manuel De La Torre. 2013. Obtención De Colágeno Y Su Efecto Como Capa Protectora Edible Utilizando Nisina Como Preservante En Productos Cárnicos Y Quesos. [En línea] 2013. [Citado el: 2 de octubre de 2018.]

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/3637/1/1104.pdf>.

Otiniano, Alberto Julca, Y Otros. 2006. La Materia Orgánica, Importancia Y Experiencia De Su Uso En La Agricultura. [En línea] Abril de 2006. [Citado el: 15 de Setiembre de 2018.] http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292006000100009.0718-3429.

Pulido, Inmaculada Romero. 2003. Hidrólisis Ácida Y Enzimática Del Residuo De Poda De Olivo Fermentación De Hidrolizados Con Pachysolen Tannophilus. Facultad De Ciencias Experimentales. [En Línea] 13 de Noviembre de 2003. [Citado el: 2 de Octubre de 2018.] <http://ruja.ujaen.es/bitstream/10953/431/1/8484392880.pdf>. 84-8439-288-0.

Almeida, P. Y Otros. 2012. Aprovechamiento de patas de pollo como alternativa para disminuir residuos generados en los Mataderos [En Línea] 6, 2012. [Citado el: 4 de Octubre de 2018.] <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v23n4/art06.pdf>

Zapata, Julian Quintero y José E. 2016. Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta. [En línea] 1, 2016. [Citado el: 4 de Octubre de 2018.] <http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v28n1/art11.pdf>. 1.

Higa, T. y Parra, J. 1994. Beneficial and Effective Microorganisms for a Sustainable Agriculture and Environment. Japón.

Valle, R. 2004. Evaluación de dos sistemas de producción de Bokashi elaborados con desechos de bananos en la universidad Earth. Costa Rica.

Tecnologías EM. [Citado el: 20 de diciembre de 2018] http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base_datos/informaciones_tecnicas_em1_ambiem.pdf

Mamani, C. 2018. Obtención De Colágeno Por El Método De Hidrolisis Alcalina A Partir De (Tarsos) De Pollo Provenientes De La Industria Avícola En La Región Arequipa. [Citado el: 23 de Abril del 2019]

Lleren, T. y Rodríguez, W. 2017. Obtención y caracterización de un hidrolizado de colágeno purificado producido mediante el uso de la enzima delvolase. [Citado el: 6 de Junio del 2019]

Da Silva, A. et. al. 2018. Optimal conditions for obtaining collagen from chicken feet and its characterization. [En Línea]2019. [Citado el: 18 de mayo del 2019]
<http://www.scielo.br/pdf/cta/v38s1/0101-2061-cta-fst27517.pdf>

ANEXOS

Anexo 1

Determinación De pH

Método: potenciómetro

Procedimiento

- ❖ En primer lugar, se verificará que el pHmetro se encuentre calibrado para su posterior uso.
- ❖ Se elegirá las muestras que se desean evaluar: colágeno hidrolizado de extremidades de pollo.
- ❖ Se colocará el pHmetro dentro de la muestra y se esperará hasta que el resultado que aparece en la pantalla deje de oscilar, y se tomará ese valor como resultado.
- ❖ Posteriormente se lavará con agua destilada a presión usando una piseta.
- ❖ Esta secuencia de operaciones se repetirá por cada muestra medida.

Anexo 2

Tipos de colágenos

TIPO	GRUPO	CARACTERÍSTICAS
Colágenos fibrilares	I	❖ Similar ruta biosintética y tamaño de las cadenas α
	II	(Mr>95.000)
	III	❖ El dominio de triple hélice es largo e ininterrumpido con una secuencia de aminoácidos Gly-X-Y repetida.
	V	
	XI	❖ Forman fibras presentes en numerosos tejidos conectivos
Colágenos no fibrilares	IV	❖ Cadenas α cortas (Mr<95.000).
	VI	❖ Interrupciones en la secuencia repetida de Gly-X-Y de los dominios de triple hélice.
	VII	
	VIII	❖ Forman hojas que constituyen membranas basales.
Colágenos de cadena corta	IX	❖ Sus cadenas tipo α poseen menor tamaño que los anteriores tipos (Mr<<<95.000).
	XII	
	XIV	❖ Estos están relacionados a las fibras tipo I y tipo III que presentan interrupciones en la triple hélice (FACITs).

FUENTE: Muñoz, 2007

Anexo 3

Ficha de activación de los microorganismos eficaces EM-1



Haga que el "Eco" de Su Negocio...
...y de Su Vida Valgan la Pena.

84/4

ACTIVE EL EM•1 ANTES DE USAR

1 Litro RINDE 20 Litros

ACTIVACIÓN DEL EM•1

Los microorganismos presentes en el EM•1 están en estado de latencia, actívelos antes de usarlos.

PARA ACTIVAR: use la proporción de **una (1) parte de EM•1** para **una (1) parte de melaza** de caña o azúcar para **dieciocho (18) partes de agua** limpia (sin cloro)*, así, 1 litro de EM•1 le rendirá 20 litros de **EM•1-Activado** para aplicación.

**Para agua tratada con cloro, antes de usarla, es necesario colocarla en un recipiente abierto y exponerla a la luz por 24 horas.*
Para la activación, use sólo **recipientes plásticos** limpios y con tapas que permitan el **cierre hermético** para evitar la entrada de aire.

Independiente del volumen total del recipiente utilizado, realice los siguientes pasos:

- A. Llene el recipiente con 9 partes de agua, o por la mitad.
- B. Coloque **1 parte de EM•1** y **1 parte de melaza** de caña o azúcar.
- C. Agite bien para disolver la melaza o el azúcar hasta formar una **solución homogénea**.
- D. Agregue las otras 9 partes de agua y cierre bien el recipiente **para evitar la entrada de aire**.
- E. Mantenga el **EM•1-Activado** en un lugar cuya temperatura oscile de cálida a caliente (25 a 40°C) durante un período de **4 a 7 días** para su respectiva fermentación.
- F. Durante la fermentación, y ya a partir **del 2º día**, se produce **gas**. Es necesario eliminar el exceso abriendo el recipiente apenas lo suficiente para extraerlo. *Realice la extracción del gas cada vez que sea necesario.*
- G. El **EM•1-Activado** está listo para **usar** a partir del **4 al 7º día**, cuando el **pH** de la solución esté **abajo de 4,0**, o cuando presente un **olor agridulce** agradable y exista un cambio de **color** de **café-oscuro** a **café-anaranjado**.
- H. El **EM•1-Activado** debe utilizarse durante los **35 días siguientes** después de su activación de lo contrario pierde eficacia.
- I. Almacene el **EM•1-Activado** siempre bien tapado, en un lugar fresco, aireado y fuera del alcance de niños y de animales domésticos.
- J. **ATENCIÓN:** Para la activación del EM•1 no use envases que puedan ser confundidos con bebidas.

Fuente: Revista Ambiem

Anexo 4.

Rendimiento y Presupuesto

- Rendimiento:


MUESTRA	REPETICIÓN	MP(gr)	COLAGENO (gr)	COLAGENO (%)
M1	R1	120	10.8	9%
	R2	120	11.9	10%
	R3	120	10.6	9%
TOTAL		360	33.3	

- Presupuesto:

MATERIAL	PRECIO/UNID	CANTIDAD	UNIDAD	COSTO
EXTREMIDADES DE POLLO	6	0.5	Kilo	3
MICROORGANISMOS EFICACES EM-1	60	1	Litro	60
AGUA DESTILADA	8.5	2	Litro	17
MELAZA	2.5	1	Litro	2.5
HIDROXIDO DE SODIO	18	1	Kilo	18
TOTAL				S/.100.5

Anexo 5

Resultado de análisis de laboratorio.



Laboratorio Santa Fe EIRL
Tu laboratorio...

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS, FÍSICOS
QUÍMICOS, BROMATOLÓGICOS Y OTROS

Pag. 1 de 1

INFORME DE ENSAYO Nº Q8519

Emitido en Trujillo, el 28 de Junio de 2019


Orden de análisis	:	Q8519
Nombre de Solicitante	:	LADY CASTREJON CEPEDA
Dirección	:	Av. Chancay Nº 484-La Esperanza-Trujillo-La Libertad.
Título del Proyecto	:	"Caracterización físico-química del colágeno hidrolizado tipo I, obtenido de extremidades de pollo (<i>Gallus gallus domesticus</i>) extraído con microorganismos eficaces EM"
Servicio solicitado	:	Proteínas, grasas
Toma de muestra realizado por	:	El cliente y recepcionada en el Laboratorio.
Fecha de recepción de muestra	:	25-06-2019/16:30 horas
Fecha de inicio de ensayo	:	26-06-2019/8:30 horas
Fecha de término de ensayo	:	28-06-2019

DATOS DE LA MUESTRA

Código de muestra	Tipo de muestra	Tamaño de muestra	Tipo de envase
1	Colágeno de pollo	6.8 g	Taper de plástico
2	Colágeno de pollo	7.9 g	Taper de plástico
3	Colágeno de pollo	6.6 g	Taper de plástico

Ensayo	Unidades	Resultado		
		1	2	3
Proteína	%	6.40	6.38	6.41
Grasas	%	1.43	1.41	1.38

Ensayo	Método de ensayo
Proteínas	Método Kjeldahl
Grasas	Método de Soxhlet



Ms. C. Luz E. Guillén Pinto
JEFE DE LABORATORIO

Disposiciones complementarias
 La reproducción parcial o total de este informe no está permitida sin autorización por escrito del Laboratorio Santa Fe EIRL.
 Este documento es válido solo en original.
 El resultado es válido solo para la muestra y las cantidades analizadas, no pudiendo extenderse sus conclusiones a ninguna otra muestra que no haya intervenido en la recepción y ensayo.
 Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por el Instituto Nacional de Calidad.
 Cualquier corrección o enmienda del presente documento lo invalida automáticamente.

A. Raymondi 330 - Trujillo - Teléfono 044-222015 / Cel.: 949 676 652 / 949 435 991
 www.laboratorio-santafe.com / ventas@laboratorio-santafe.com / labsantafeirl@gmail.com

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME

Anexo 6

Evidencia Fotográfica

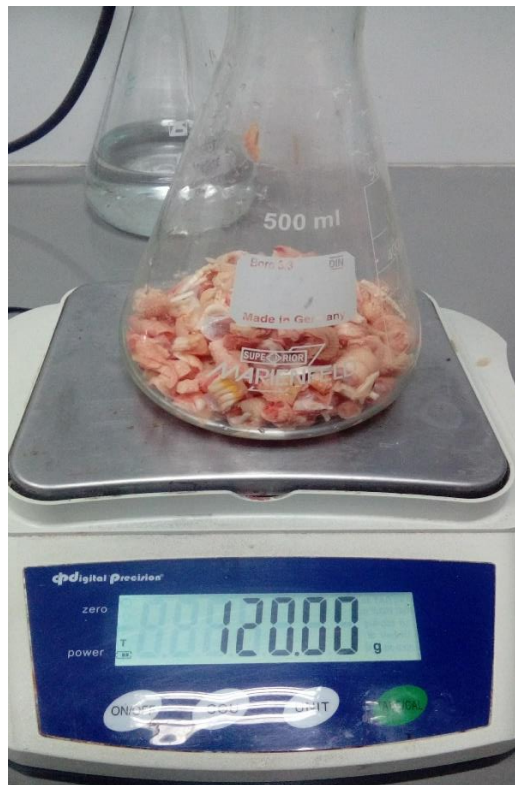
Medición de pH de los microorganismos eficaces activados



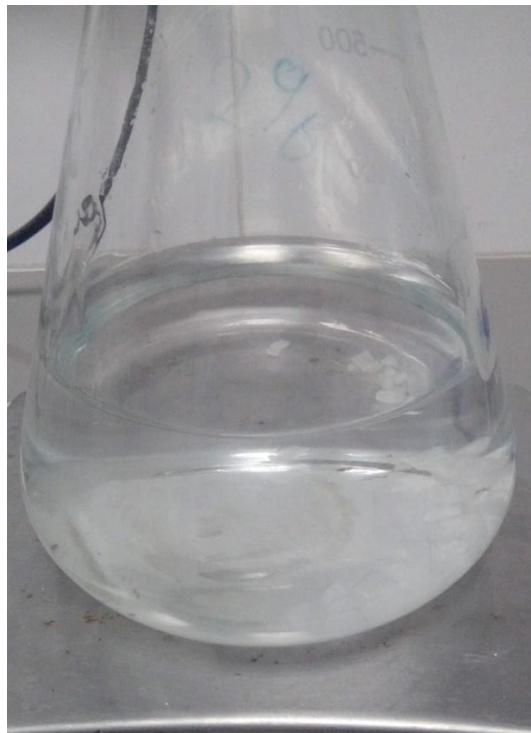
Microorganismos eficaces A.: Conductividad eléctrica



Pesado de las extremidades de pollo



NaOH 0.25 M



Proceso de Hidrólisis del colágeno



Proceso de Neutralización del Colágeno



Baño María del Colágeno Hidrolizado



Etapa de Concentración del Colágeno



Equipo de liofilización



Muestras en la liofilizadora



Etapa de secado: Muestra de colágeno liofilizada

