

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE PESQUERÍA



**“APROVECHAMIENTO DE LA PIEL DE PAICHE (*Arapaima gigas*)
PARA LA OBTENCIÓN DE COLÁGENO”**

Presentado por:

ERNESTO JOEL BARRENECHEA CISNEROS

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERO PESQUERO

Lima – Perú

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE PESQUERÍA

**“APROVECHAMIENTO DE LA PIEL DE PAICHE (*Arapaima gigas*) PARA LA
OBTENCIÓN DE COLÁGENO”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO PESQUERO

Presentado por:

ERNESTO JOEL BARRENECHEA CISNEROS

Sustentado en enero del 2018 y aprobado por el siguiente jurado

Mg. Sc. David Julián Roldán Acero
Presidente

Dra. Fabiola Olivares Ponce
Miembro

Ing. Domingo Sánchez Amado
Miembro

Ing. Juan Rodolfo Omote Sibina
Asesor

Ing. Andrés Molleda Ordóñez
Co-asesor

DEDICATORIA

A Dios por fortalecerme en todo momento y por haber puesto en mi camino personas que han sido mi soporte y compañía durante este tiempo.

A mis padres por siempre tener la confianza suficiente en mí.

A mi familia por su apoyo en todo momento.

A mis amigos y compañeros por brindarme su apoyo y amistad.

AGRADECIMIENTO

Al Ing. Rodolfo Omote por siempre apoyarme en la presente investigación a pesar de todos los inconvenientes presentados y al Ing. Andrés Molleda porque del mismo modo creyó en esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Descripción de la especie	3
2.1.1 Clasificación taxonómica	4
2.1.2 Morfología	5
2.1.3 Color.....	5
2.1.4 Distribución geográfica.....	6
2.2 Exportaciones y futuro promisorio del paiche en el país	6
2.3 La piel de pescado	13
2.3.1 Cutícula	14
2.3.2 Epidermis.....	14
2.3.3 Dermis	15
2.3.4 Hipodermis	17
2.4 Evaluación sensorial del pescado y de su piel.....	18
2.5 Otros usos de la piel de pescado	19
2.6 Piel de la especie paiche (<i>Arapaima gigas</i>).....	20
2.7 Proteínas	21
2.7.1 Proteínas estructurales	22
2.7.2 Proteínas sarcoplasmáticas	23
2.7.3 Proteínas del tejido conectivo (colágeno).....	24

2.8	Fuerza gel	34
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	36
3.1	Lugar de ejecución	36
3.2	Materia prima	36
3.3	Materiales y equipos	36
3.3.1	Materiales de vidrio	36
3.3.2	Materiales de limpieza.....	36
3.3.3	Otros materiales.....	37
3.3.4	Equipos	37
3.3.5	Reactivos químicos.....	37
3.4	Métodos de análisis	37
3.4.1	Análisis químico proximal	37
3.4.2	Análisis microbiológico.....	38
3.4.3	Determinación del pH.....	38
3.4.4	Determinación de la fuerza gel.....	38
3.5	Metodología experimental	41
3.5.1	Primer experimento: Maceración de listones de piel de paiche en tres diferentes concentraciones de hidróxido de potasio (KOH).	44
3.5.2	Segundo experimento: Neutralización de listones de piel de paiche macerados.	44
3.5.3	Tercer experimento: Determinación de tiempo y temperatura de extracción de colágeno de listones de piel de paiche.	44
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	46
4.1	Evaluación sensorial de la piel	46
4.2	Primer experimento: Maceración de listones de piel de paiche en tres diferentes concentraciones de hidróxido de potasio (KOH)....	47

4.3	Segundo experimento: Neutralización de listones de piel de paiche macerados	53
4.4	Tercer experimento: Determinación de tiempo y temperatura de extracción de colágeno de listones de piel de paiche.	56
4.5	Caracterización del producto final.....	59
4.5.1	Análisi fisico-químicos.....	61
4.5.2	Análisis microbiológicos	61
4.5.3	Rendimiento	62
V.	CONCLUSIONES	63
VI.	RECOMENDACIONES	64
VII.	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	65
VIII.	ANEXOS	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Cultivo de recursos hidrobiológicos según utilización, 2015 (TM).....	8
Tabla 2: Cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad acuicultura según especie.....	9
Tabla 3: Cosecha de recursos hidrobiológicos de la actividad acuicultura según departamento, 2006-2015 (TM)	10
Tabla 4: Exportación de productos hidrobiológicos procedentes de la actividad acuicultura según país de destino, 2015.. ..	11
Tabla 5: Diseño experimental de las diferentes etapas evaluadas en la extracción de colágeno	45
Tabla 6: Evaluación sensorial de la calidad de la piel de paiche.....	47
Tabla 7: Propuesta para la evaluación de proceso de macerado de la piel de paiche en función al porcentaje de hinchazón y desprendimiento de escamas	52
Tabla 8: Resultados en la etapa de neutralización de los listones de piel de paiche macerados en solución de KOH.....	54
Tabla 9: Determinación de la fuerza gel.	57
Tabla 10: Resultados de ensayos fisico-químicos del colágeno extraído	60
Tabla 11: Resultados microbiológicos del colágeno extraído convertido en gelatina.. ..	61
Tabla 12: Rendimiento del colágeno extraído.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Paiche (<i>Arapaima gigas</i>)	4
Figura 2: Piel “Bolsillo de las escamas”	16
Figura 3: A la izquierda, ejemplar de pacú (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) con la piel fresca, a la derecha ejemplar de pacú con la piel deteriorada.	19
Figura 4: Micografía electrónica de las fibras de colágeno	24
Figura 5: Estructura del colágeno.....	27
Figura 6: Diseño de dispositivo para medir la fuerza gel del colágeno extraído	40
Figura 7: Flujograma para la extracción de colágeno de piel paiche	41
Figura 8: Piel de paiche recién cortada	46
Figura 9: Pieles de paiche cortadas y lavadas	48
Figura 10: Listón de paiche macerado, después de 12 horas a 1N de KOH	50
Figura 11: Piel de paiche macerada.....	50
Figura 12: Evaluación del macerado por horas	51
Figura 13: Desprendimiento de escamas de la piel de paiche.....	52
Figura 14: Curva de neutralización pH vs. Tiempo	55
Figura 15: Pieles de paiche a punto de iniciar la etapa de extracción	56
Figura 16: Colágeno extraído.....	57
Figura 17: Fuerza gel en la etapa de extracción	58
Figura 18: Colágeno seco en láminas.....	60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Tabla de límites microbianos según Resolución Ministerial	74
Anexo 2: Cálculo general del análisis de varianza (ANOVA) para determinar el coeficiente de variabilidad y el valor F en la etapa experimental de extracción .	75
Anexo 3: Comparación de medias utilizando el Test de Tukey durante la etapa experimental de extracción.....	76

RESUMEN

Se utilizó la piel de paiche con la finalidad de estudiar el proceso de extracción de colágeno, en donde se definieron tres etapas principales: macerado, neutralización y extracción. En la etapa de macerado los resultados determinaron que la concentración adecuada de hidróxido de potasio fue de 1N en una relación de 1:5 p/v (piel: solución) por un tiempo de 12 horas, en esta etapa se evaluó el desprendimiento de escamas y la hinchazón de la piel. Durante la etapa de neutralización la piel de paiche macerada se sometió a diferentes números de lavados cada uno con una duración de 10 minutos con la finalidad de eliminar el hidróxido y neutralizar la piel, se determinó que después de 8 lavados se bajó el pH hasta 7,14. Para lograr la extracción del colágeno de la piel de paiche, ésta se sometió a la etapa de extracción, donde se probaron tres temperaturas, 50 °C, 60 °C y 70 °C; para determinar su validez estadística se planteó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) y para conocer qué tratamiento fue el mejor se empleó un Test de Tukey, los resultados obtenidos permitieron concluir que la mejor variable de temperatura fue la de 70°C con un tiempo de extracción de 3 horas, la evaluación de la mejor temperatura se realizó en función de la fuerza de gel. Los resultados obtenidos del colágeno extraído al final de la investigación determinaron que éste tuvo una fuerza gel de 962 gr/cm² y un rendimiento de 7.11% desde la piel limpia con escamas hasta el colágeno seco en láminas. Respecto a los análisis físico-químicos (resultados evaluados en base húmeda), éstos determinaron que el producto final presentó un 90% de proteína y 10% de humedad; y los análisis microbiológicos demostraron que los microorganismos evaluados estuvieron por debajo de los límites máximos recomendados por el MINSA/DIGESA. Se concluyó que la piel de paiche es una materia prima que puede ser aprovechada para la extracción de colágeno.

Palabras claves: Colágeno, paiche, extracción de colágeno, piel, fuerza gel.

I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura en el mundo se ha convertido en una importante industria proveedora de alimentos de alto valor nutricional y generadora de empleo e ingresos en los países tanto desarrollados, como en los que se encuentran en vías de desarrollo (PRODUCE, 2011). Una de las especies hidrobiológicas más promisorias en el país para el cultivo es el paiche (*Arapaima gigas*), cuyas tasas de crecimiento y los niveles de producción alcanzados, como jaulas flotantes y la utilización de alimento extruido, a través del cultivo intensivo (que utiliza una dieta a base de pescado, alimento peletizado, o una dieta mixta compuesta por ambos tipos) son realmente importantes y permiten avizorar posibilidades de desarrollo económico a través de esta actividad en la región amazónica (Alcántara *et al.*, 2006).

Reciente y especialmente en la industria alimentaria, un número creciente de nuevas aplicaciones sobre el colágeno se han encontrado, tales como agentes emulsionantes, espumantes, estabilizadores coloidales, materiales formadores de película biodegradables y agentes de micro-encapsulación, en línea con la creciente tendencia a sustituir los agentes sintéticos con otros más naturales (Gómez - Guillén, 2011).

Según Wang *et al.* (2008), esta proteína se encuentra en los tendones, huesos y tejidos conectivos de los animales, además de ello el colágeno y sus hidrolizados son una fuente amplia y abundante de hidrocoloides naturales, ampliamente utilizados en la industria alimentaria.

Los subproductos de especies acuáticas, incluyendo la piel, escamas y huesos se consideran cada vez más como una fuente prometedora de materiales de colágeno y podrían ser una alternativa rentable a la fuente de los mamíferos. Esta proteína contiene, cifrada dentro de su estructura primaria, una serie de péptidos bioactivos, que pueden ser liberados durante la hidrólisis enzimática controlada o la digestión gastrointestinal (Ennas *et al.*, 2016).

El objetivo principal de la investigación fue demostrar que la piel del paiche puede ser aprovechada para la obtención de colágeno, a través de un proceso de extracción, por otro lado se definieron como objetivos específicos para lograr una efectiva obtención del colágeno, determinar la concentración de hidróxido de potasio (KOH) en la etapa de maceración, determinar el número de lavados, el tiempo para neutralizar la piel macerada y determinar la relación temperatura/tiempo de extracción de colágeno, además de calcular el rendimiento.

Objetivos

a. Objetivo General

- Determinar un proceso de extracción de colágeno a partir de la piel de Paiche (*Arapaima gigas*)

b. Objetivos específicos

- Evaluar los parámetros (temperatura, concentraciones y tiempo) para la maceración piel de Paiche.
- Determinar el número de lavados en la extracción de colágeno.
- Obtener el rendimiento del proceso y del producto final.
- Determinar el tiempo óptimo para la extracción de colágeno
- Caracterizar el producto final.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Descripción de la especie paiche (*Arapaima gigas*)

El paiche es un recurso pesquero muy popular en la cuenca del Amazonas, de suma importancia económica y científica debido a su gran disponibilidad de carne y por ser único en su género (Rebaza *et al.*, 1999).

De igual manera, Serrano *et al.*, (2013), consideran que esta especie en nuestro país genera trabajo y por consecuencia ingresos en los pobladores amazónicos, sus productos se encuentran ampliamente comercializados ya que representan fuente potencial de alimentación, de modo que las autoridades locales y regionales han iniciado una ardua promoción del cultivo de esta especie en ambientes de control.

En ese sentido, el paiche es uno de los recursos de agua dulce más grandes del mundo, llega a medir más de tres metros de longitud y muchas veces se calcula que su peso llega a superar los 200 kg. (Luling *sf.* citado por Rebaza *et al.* 1999).

La información antes expuesta es respaldada por Alcántara *et al.* (2006), quienes señalan que esta especie a pesar de su gran tamaño puede ser cultivada con buenos resultados en diversos ambientes y con diferentes tipos de alimento.

A su vez, consideran que la conservación del paiche se encuentra en función a su reproducción, la cual se encuentra expuesta a las demandas de un complejo ecosistema amazónico, produciendo alta propensión a la mortalidad en sus crías, razón por la cual, durante los últimos años se ha optado por su cultivo tanto en estanques como en jaulas flotantes proporcionando óptimos resultados en ambos casos (Alcántara *et al.* 2006).

2.1.1 Clasificación taxonómica

Según Palmeira e Imbiriba, citados por Rebaza *et al.*, (1999), la clasificación taxonómica del paiche es la siguiente:

- Orden: Osteoglossiformes
- Suborden: Osteoglossoidei
- Superfamilia: Osteoglossoidae
- Familia: Esteoglossidae
- Género: *Arapaima*
- Especie: *Arapaima gigas*

La apariencia física de la especie paiche (*Arapaima gigas*), se puede observar a detalle en la figura 1 (Alcántara *et al.*, 2006),



Figura 1. Paiche (*Arapaima gigas*)

En la figura 1: ejemplar de 75 kilogramos capturado en el lago Imiria, la protección de los planteles reproductores pasa por un control estricto de los volúmenes de saca anual y la vigilancia de los cursos de agua.

2.1.2 Morfología

Esta especie presenta una cabeza pequeña en relación a su cuerpo, de aproximadamente el 10% del total de su peso, igualmente posee aletas pequeñas orientadas hacia atrás, una lengua ósea la cual llega a medir 25 cm. de longitud total y 5 cm. de ancho, cabe recalcar que las branquias o agallas de esta especie al ser relativamente pequeñas crean la necesidad de que el animal salga a la superficie para captar aire atmosférico empleando una vejiga especializada y conectada a la columna vertebral, que se comunica de forma directa con el esófago a través de una válvula que el pez controla a voluntad propia (Rebaza *et al.*, 1999; Alcántara *et al.*, 2006).

Posee un cuerpo alargado, circular y elipsoidal en sección, se encuentra rodeado de grandes escamas cicloideas. Las aletas pectorales se encuentran separadas de las ventrales, en tanto las aletas dorsales y anales se encuentran cerca de la caudal (Rebaza *et al.*, 1999).

Alcántara *et al.*, (2006), refieren que el tubo digestivo de esta especie es corto, como en todos los peces carnívoros, además su estómago posee forma de V y presenta dos ciegos pilóricos relativamente grandes; los intestinos de esta especie se logran distinguir ampliamente por su contenido, ya que el intestino delgado se encuentra en fase líquida y el intestino grueso en fase sólida.

2.1.3 Color

El color del paiche es castaño claro a partir del octavo mes de edad, con color pardo negruzco en la cabeza y el dorso, las escamas abdominales en la mitad posterior del cuerpo ribeteadas de color rojo oscuro, las aletas ventrales en los adultos con manchas negras y amarillas, dispuestas en forma de ondas irregulares; la aleta dorsal, anal y caudal con manchas claras (Rebaza *et al.*, 1999).

Por su parte, Alcántara *et al.*, (2006), señalan que el paiche presenta color castaño claro en el dorso y ligeramente blanquecino en las regiones lateral y ventral, además en época de reproducción, el macho cambia esta coloración blanquecina por un color rojo ladrillo

en áreas como; región inferior de la cabeza, región lateral del cuerpo y cola; la coloración de la hembra es la misma pero con menor intensidad.

Cabe recalcar que la pigmentación del pez puede variar de acuerdo al color del agua del ambiente donde vive, pues en ambientes de agua negra los colores se acentúan, mientras que en los de agua clara los colores se presentan con menor intensidad (Rebaza *et al.*, 1999; Alcántara *et al.*, 2006).

2.1.4 Distribución geográfica

El paiche se encuentra en toda la cuenca Amazónica y también en otros ríos comprendidos desde Guyana hasta en Brasil (Rebaza *et al.*, 1999).

En el Perú se encuentra en las cuencas bajas de los ríos Napo, Putumayo, Marañón, Pastaza y Ucayali, con abundancia en la Reserva Nacional Pacaya – Samira (Luling *sf.*, citado por Rebaza *et al.*, 1999).

2.2 Exportaciones y futuro promisorio del paiche en el país

El paiche es un recurso de gran importancia en nuestro país, posee un rendimiento de 57% de filete, carece de huesos intermusculares, tiene una textura óptima y carne de sabor agradable; en ese sentido, constituye un recurso viable para la obtención de productos con valor agregado; sin embargo, esta especie al adquirir alta demanda en su ambiente natural ha provocado gran disminución en su población, razón por la cual el estado y organizaciones privadas han optado por reducir su pesca en áreas naturales, en especial en la Reserva Nacional Pacaya-Samiria; pese a ello, dicha concepción ha dado pie a la creación de cultivos de la especie con dietas artificiales, obteniendo resultados óptimos que no han afectado las propiedades nutritivas del paiche (Alcántara *et al.*, 2006).

Lo referido en líneas anteriores es respaldado por Chu-Koo *et al.*, (2017), quien indica que el paiche es la especie amazónica de mayor proyección para fines de cultivo en el Perú, según estudios de mercado en Europa; ya que esta especie se encuentra experimentando un importante crecimiento debido al incremento tecnológico, la

preocupación del Estado y la inversión de capitales peruanos y extranjeros, además que posee gran demanda a nivel regional, tal es el caso de Lima, Piura, Ucayali y Tumbes.

En consecuencia, el paiche es considerada como la especie de agua dulce con mayor potencial económico para la exportación, ya sea por su apreciado gusto, textura y altas propiedades nutritivas estables a pesar de ser sometida a alimentación artificial por medio del cultivo; a su vez, el paiche como recurso posibilita la generación de ingresos adicionales a través del empleo de sus subproductos, tales como; escamas, piel, vísceras, lengua y huesos (Ghiggo *et al.*, 2007; Alcántara *et al.*, 2006).

Según Sakata, 2013; Gestión, 2013, la Amazonía peruana hoy en día se encuentra conquistando el mercado internacional gracias al paiche, cuya carne es muy valorada, dada su versatilidad para la elaboración de variedad de platos; por otro lado, firmas importantes como Amason Fish Product S.A ponen su interés en la protección y comercialización de este recurso, cuyos inicios de trabajo datan al año 2006 con la creación de proyectos en pro del cuidado ambiental y responsabilidad social, desarrollando así una piscícola especializada en la crianza del paiche, donde con el paso de los años se abrió puertas a la exportación de la especie, siendo el mercado Estadounidense uno de los primeros en recibir este recurso.

De igual manera, Velásquez, 2016; citado MINAGRI (2016), refiere que el paiche es uno de los principales peces de la Amazonía el cual tiene un mercado importante en Estados Unidos, ostentando a la fecha señalada una necesidad de 250 000 toneladas de esta emblemática especie; a su vez el autor plantea atender otro gran mercado como lo es el interno, creando alianzas estratégicas con restaurantes y chefs peruanos para de esta forma fortalecer el desarrollo y potencial de esta especie.

Cabe recalcar que SANIPES (2016), pronostica que el paiche se sumaría en exportación a China, debido a la reciente aprobación del langostino a dicho país, con objetivo de fortalecer las buenas prácticas pesqueras y acuícolas.

En ese sentido, los principales mercados en potencia para esta especie son; Estados Unidos, Hong Kong, Japón, Filipinas, Singapur, Bélgica, España e Israel (Velásquez, 2016; MINAGRI, 2016).

Tabla 1. Cultivo de recursos hidrobiológicos según utilización, 2015 (TM)

Especie	Total	Fresco	Congelado
Boquichico	8,99	8,99	
camaron de Malasia	22,55	22,55	
Carpa	4,01	4,01	
Gamitana	298,5	298,5	
Paco	825,33	825,33	
Pacotana	219,08	219,08	
Paiche	135,13	30,06	105,07
Sábalo	33,09	33,09	
Tilapia	3250,19	3250,19	
Trucha	40940,49	37130,55	3809,94
Otros	14,59	14,59	

Fuente: PRODUCE (2015).

La tabla 1 reportada por PRODUCE (2015) se da a conocer como el paiche empieza a destacar entre los principales recursos cultivados, inclusive ya vendiéndose como producto congelado. Dicha información es respaldada por el ITP (2002), señalando que el consumo de paiche como carne, atiende los requerimientos del mercado local y regional amazónico, siendo consumidos y comercializado tanto en estado fresco como en producto curado, en ese sentido, la carne de paiche es de óptima calidad y muy apreciada debido a que carece de huesos intermusculares, tiene un aspecto fibroso, color blanquecino y sabor neutro, adecuado para la elaboración de gran variedad de platos.

Por otro lado a partir del año 2010 esta especie ha ido experimentando un incremento del volumen de cosecha (Tabla 2); lo que puede estar sustentado es que los inversionistas privados y comunidades vienen recibiendo asistencia por parte de los gobiernos locales para así fomentar su desarrollo, además de que actualmente se está

experimentando un auge del consumo de la carne de paiche tanto a nivel nacional como internacional.

Tabla 2. Cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad acuicultura según especie (TM)

Especie	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Boquichico	12	15	25	27	36	15	35	56	5	9
Camarón gigante de Malasia	11	4	6	11	15	13	11	20	78	21
Carachama	0	1	4	1	22	6	7	10	5	4
Carpa	11	13	15	15	19	8	19	6	2	4
Gamitama	344	414	539	564	680	522	453	531	504	299
Paco	38	34	71	75	101	130	299	443	453	825
Pacotana	6	86	59	12	3	12	17	15	9	219
Paiche	2	-	1	3	48	422	637	94	55	135
Tilapia	494	1741	1714	1261	2013	2423	3174	3840	4610	3250
Trucha	5294	6997	12497	12817	14250	19962	24762	34992	32923	40946
Sábalo	78	41	52	49	114	95	46	58	37	33
Otros	3	2	3	2	19	0	102	3	1	12

Fuente: PRODUCE (2015).

La tabla 3 muestra que los departamentos de Loreto y Ucayali son los que presentan mayor contribución en la producción de esta especie; sin embargo, en la actualidad son más los departamentos que se están sumando al desarrollo del paiche, entre los cuales destacan; Lima, Piura y Tumbes (PRODUCE, 2015).

Tabla 3. Cosecha de recursos hidrobiológicos de la actividad acuicultura según departamento, 2006-2015 TM

Paiche (Arapaima gigas)	Loreto	Ucayali	Otros	Total
2006	2	-	-	2
2007	-	-	-	-
2008	1	-	-	1
2009	-	2,76	-	3
2010	47,67	-	-	48
2011	421,23	-	1	422
2012	297,37	42,00	298	637
2013	63,27	5,79	25	94
2014	22,53	6,58	26	55
2015	101,67	0,80	33	135

Fuente: PRODUCE (2015)

Según Velásquez (2016) citado por MINAGRI (2016), la formulación de planes de negocio, participación en ferias y la consolidación de su acceso a más mercados, harán que éste cultivo deje de ser prometedor y se convierta en uno de los principales del país.

Cabe recalcar que una de las principales ventajas de esta especie con respecto a otras de cultivo son sus tasas de crecimiento, ya que el paiche logra aumentar en un año su tamaño hasta un metro de largo, y su peso hasta en 10 kilogramos, por consiguiente, proporciona mayor cantidad de materia prima para la comercialización (Alcántara *et al.*, 2006).

En ese sentido, se ha logrado diversificar el mercado, disminuir las tasas de pesca de la especie, generar puestos de trabajos y contribuir a la venta de su carne tanto de forma interna como para exportación (Velásquez, 2016; MINAGRI, 2016).

Es importante destacar que la gran cantidad de bondades y cualidades nutritivas que posee el paiche ha contribuido en el alza en su precio en el mercado, convirtiendo sus carnes y derivados en bienes caros, razón por la cual su producción sería destinada en mayor parte a la exportación (ITP, 2002). Al respecto Velásquez (2016) citado por MINAGRI (2016), sostiene que en Estados Unidos el filete de paiche tiene un valor

aproximado de US\$ 13 la libra, existiendo alta demanda principalmente en restaurantes de cinco tenedores, pues su carne es valorada tanto por su sabor como por su versatilidad. En la Tabla 4 se puede observar que el país que más ingresos representa para los productores en el país es Estados Unidos, teniendo como segundo destino España.

Tabla 4. Exportación de paiche (*Arapaima gigas*) procedente de la actividad acuicultura según país de destino, 2015

Europa	TMB	US\$
Bélgica	0,02	167
España	0,46	5298
América	TMB	US\$
Estados Unidos	39,28	446614
Asia, África y Oceanía	TMB	US\$
Otros	0,46	5690

Fuente: PRODUCE (2015).

Según los datos reportados en la tabla 3 el paiche se proyecta como una especie promisoría, según Martínez (2011) la incorporación de un mayor número de inversionistas extranjeros en el tema del cultivo y crianza del paiche como; Amazon Fish Product S.A y American Quality S.A, además de la asociación de empresas productoras de semillas como: Fundo San Luis, Amazon Harvest S.A.C, Selva Amazon Breeder S.A.C, Fundo Tony, Peces y Pescados y The Tiger Ranch E.I.R.L han logrado convertir a esa especie como un potencial recurso hidrobiológico.

MINAGRI (2016), sostiene que la exportación de paiche es cada vez más rentable en el país y que solo en el año 2015 las ventas al exterior sumaron 806 mil 482 dólares, en ese sentido, la exportación de este recurso constituye una oportunidad de negocio que puede generar desarrollo sostenible entre los integrantes de su cadena de valor, los cuales se encuentran ubicados en la selva peruana, en su mayoría.

El paiche es un recurso ampliamente cotizado, definiéndose como un producto semi graso y que presenta alta demanda interna a causa de la calidad de su carne (ITP, 2002).

En ese sentido, MINAGRI (2016), refiere que la demanda interna de este recurso se encuentra en expansión, por lo cual manifiesta necesaria la implementación de un modelo de gestión que lo haga más competitivo y así aportar con la mejora en su acceso a más mercados.

Cabe recalcar que que si bien el paiche es amazónico, ya es criado en países como Taiwán, Tailandia y Singapur con propósitos ornamentales, además en otros territorios esta especie es conocida con diversas terminologías, tal es el caso de Brasil “Piracurú”, Colombia “Warapaima” y Guyana “Arapaima” o “De-chi” (MINAGRI, 2016).

Desde el mercado nacional, el ITP (2002), considera que el paiche debido a sus excelentes características físicas y sensoriales tendría las condiciones para ser introducido en el mercado nacional e internacional como un producto tipo “Gourmet”, si es acompañado de adecuada publicidad, la cual enfatice en su origen amazónico, provenir silvestre y exótico, libre de contaminación, garantía de calidad ecológica y variada presentación.

Con referencia a costos en mercado nacional, la especie paiche es considerada como cara; y al igual que otros productos pesqueros, suelen elevarse en días festivos, tales como en semana santa y fiestas patronales de la región selva, ascendiendo de 20 a 30 soles el kilo, siendo los principales focos de incremento el mercado de Yurimaguas en el departamento de Loreto (ITP, 2002)

Dada la demanda interna y externa de la especie paiche, MINAGRI (2016), considera oportuno mejorar y ampliar servicios de capacitación, asistencia técnica, acceso a certificaciones, normas técnicas y transferencia de tecnología con lo que la “Paichecultura” logre alcanzar altos niveles de desarrollo, a su vez plantea que en el mercado interno se debe impulsar alianzas estratégicas con chefs para el lanzamiento de recetarios y degustaciones de la especie; al igual que lo contemplado para el caso de la trucha.

De otro lado también es importante destacar que el paiche aporta con amplitud en la economía y comercio de nuestro país, debido a la compra y venta de su carne a manera

de alimento; sin embargo, las bondades que este recurso provee van más allá de constituirse como un delicioso y proteico alimento, pues como materia prima existen referencias de empresas acuícolas muy interesadas en invertir en la crianza de paiche con fines de procesamiento de su piel y otros derivados adicionales a su carne (ITP, 2002).

2.3 La piel de pescado

Las características anatómicas y físicas de los peces son diferentes a las de mamíferos; pese a ello, poseen los mismos órganos y sistemas que se encuentran en otros animales (Sierra *et al.*, 2011).

La piel de pescado presenta una capa lisa con una moderada pigmentación, en la cual las escamas se encuentran firmes y en forma curvada, a su vez, la piel de pescado posee gran resistencia incluso frente al cuero vacuno (Panchana, 2013).

La piel de pescado es considerada como una barrera osmótica que actúa de protección primaria ante el ambiente; contiene abundantes minerales, proteínas, ácidos grasos y vitaminas esenciales para el cuerpo humano, los cuales aportan como alimento proteico para el hombre; sin embargo, últimamente no solo contribuye con esta finalidad, dado que su uso se ha amplificado hacia otras áreas de comercio (Guillermo y Ramagnano, 2014; Gil, *et al.*, s.f).

Del mismo modo, Panchana (2013) refiere que la piel de pescado puede beneficiar la mano de obra artesanal y el aprovechamiento de materia que antes era desechada, contribuyendo así con la economía y medio ambiente.

Por su parte, Sierra *et al.* (2011), señalan que los peces poseen la peculiaridad de adaptarse a la temperatura del medio que lo rodea, debido a esto son poiquilotermos, es decir, se adecúan a temperaturas que van desde los 0°C hasta las temperaturas de los manantiales geotérmicos.

Cabe recalcar que el sistema cutáneo es la principal barrera de los peces frente al medio externo, ellos no gozan de una capa de queratina sobre la epidermis (Sierra *et al.* 2011;

Gil *et al.* (s.f.), afirman que la piel de pescado se compone estructuralmente por; epidermis (revestida por una cutícula) y dermis (desde donde se originan las escamas), esta última descansa sobre la hipodermis (capa adiposa que une la piel a las estructuras subyacentes).

2.3.1 Cutícula

Sierra *et al.* (2011), mencionan que la cutícula es una capa externa de aproximadamente 1µm de espesor, está constituida especialmente por mucopolisacáridos y secretada principalmente por una gran cantidad de células epiteliales, en menor proporción por células mucosas en copa y un complejo de células protoplasmáticas, células descamadas y algunas células mucosas en copa que han sido elaboradas en superficie; además mencionan que la capa cuticular contiene inmunoglobulinas específicas, lisozimas y ácidos grasos libres, todos ellos con una gran capacidad antipatógena.

2.3.2 Epidermis

Las células Malpighi son el componente principal, las cuales se sitúan en la capa externa de la epidermis; esta capa presenta también células calciformes secretoras de mucus; su grosor es variable, con capas de 20 a 30 células dependiendo de la especie, siendo menor en especies con número de escamas reducido (Gil *et al.* s.f; Sierra *et al.* 2011).

Según Sierra *et al.* (2011), la epidermis en peces adultos está conformada por un epitelio escamoso estratificado de anchura variable, el cual cubre toda la superficie del cuerpo, incluida la cola y las aletas; la epidermis está conformada por células con la capacidad de dividirse por mitosis a todos los niveles, incluso en la parte escamosa más superficial; su espesor es dependiente de la edad, la especie, el sexo, desplazamiento e incluso el momento de su ciclo reproductor, además suele ser espesa en especies poco cubiertas de escamas, así como sobre las aletas, donde esta capa es particularmente rica en las terminaciones nerviosas y células mucosas.

Del mismo modo, estudios revelan que las células de Malpighi poseen forma redonda y estructura similar en todas las capas, excepto en la más superficial, donde son aplanadas y horizontales, como un citoplasma formado principalmente por la acumulación de largas vacuolas, mitocondrias degeneradas y haces de fibrillas intracelulares (Sierra *et al.* 2011).

Es importante mencionar que cuando la epidermis es muy delgada, puede verse que la capa media de la célula mucosa se encuentre directamente sobre la membrana basal, conforme se acercan a la superficie, aumentan su tamaño y elaboran más secreciones, principalmente glicoproteínas (Sierra *et al.*, 2011; Gil *et al.*, s.f).

Sierra *et al.* (2011), sostienen que las células “Club”, son aquellas que se encuentran en capas inferiores y medias de la epidermis, de forma casi siempre redonda y de gran tamaño, a su vez mencionan que numerosa variedad de peces poseen amplia gama de células granuladas, de las que aún se desconoce sus funciones, tales como; linfocitos, macrófagos y estructuras quísticas de dudoso origen celular, cabe recalcar que la epidermis es separada de la dermis a través de una membrana basal.

2.3.3 Dermis

Elliott (2000) citado por Bonilla *et al.* (2008), refiere que la dermis está compuesta por tejido conjuntivo denso o fibroso y posee algunas capas de células de pigmento en la parte marginal entre la “epidermis” y la capa subcutánea “hipodermis”, las cuales proporcionan el color a los peces, macrófagos y mastocitos.

Es importante señalar que en la dermis es donde se originan las escamas, e imbricadas unas con otras quedan cubiertas por la epidermis, normalmente no recubren la cabeza, pero se trata de placas flexibles que constituyen una fuente de calcio, presentando una cresta ósea exterior y una parte interior de tejido conjuntivo fibroso al cual se le conoce como colágeno (Gil *et al.*, s.f.).

Así mismo Sierra *et al.* (2011), refieren que las escamas son placas flexibles y calcificadas, que nacen de la dermis y se entierran parcialmente en unos bolsillos de

escamas, los cuales son considerados como pequeños huesos dérmicos supervivientes de los exoesqueletos en distintos peces acorazados, esta información puede apreciarse a detalle en la figura 2.

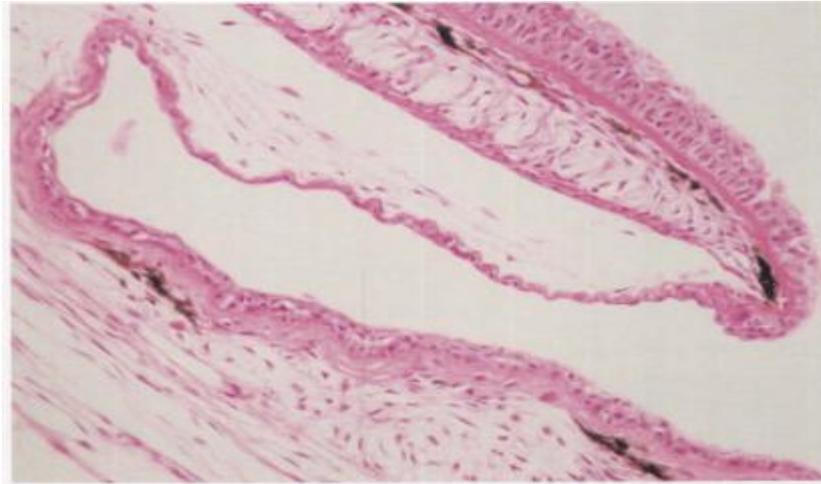


Figura 2. Piel “Bolsillo de las escamas”

Cabe recalcar que la pérdida de escamas conlleva a su vez a una pérdida de epidermis, lo que puede tener consecuencias en la regulación osmótica; las escamas en peces teleósteos se componen en dos tipos principales; las ctenoideas, presentes en los teleósteos de radios espinosos y las escamas cicloideas, presentes en los teleósteos de radios blandos; la principal diferencia entre ellas radica en la presencia de un número variable de indentaciones que se observan en el borde caudal de las escamas ctenoideas pues su forma se asemeja a un peine, mientras que las escamas cicloideas presentan forma más o menos circular; al crecer continuamente, ambas escamas quedan marcadas por anillos en su superficie, lo que permite estimar la edad de la especie (Gil *et al.*, s.f.).

Por otro lado, Sierra *et al.* (2011), afirman que existen peces con gran capacidad para cambiar su color, ya sea al momento de la reproducción, adaptarse al medio ambiente o por problemas patológicos; dicha facultad es proporcionada por un control de modulación del intercambio de propiedades de adsorción y reflexión de la luz, asegurada por varios tipos de cromatóforos, entre los cuales destacan; melatóforos, definidos como células estrelladas de pigmentación oscura, y los lipóforos, que contienen pigmentos solubles en pigmentos orgánicos y se subdividen en dos tipos: los

eritróforos y los xantóforos; todos los pigmentos mencionados son esencialmente carotenoides, es decir, no pueden ser sintetizados por el pez y deben de ser aportados necesariamente en la dieta a través del alimento.

Gil *et al.* (s.f), refieren que la dermis se compone por dos estratos, uno superficial o esponjoso y otro profundo o estrato compacto, los cuales serán detallados a continuación:

- **Stratum spongiosum**

Esta capa se encuentra conformada por una red de tejido conjuntivo laxo y fibras de reticulina que contienen cromatóforos, responsables del color de la piel y mastocitos (Gil *et al.*, s.f).

- **Stratum compactum**

Comprende una matriz densa de colágeno, responsable de la fortaleza estructural de la piel (Gil *et al.*, s.f.).

2.3.4 Hipodermis

Se conforma por tejido adiposo laxo que conecta la dermis y epidermis a estructuras subyacentes (Gil *et al.*, s.f).

Según, Le Guellec (2004) citado por Bonilla *et al.* (2008), esta capa es considerada como una variante del tejido conjuntivo, el cual es especializado en el almacenamiento de lípidos, cuyas células principales son los adipocitos, que se encuentran en una malla de tejido conjuntivo reticular, donde es posible observar capilares sanguíneos.

2.4 Evaluación sensorial del pescado y de su piel

Antes de definir específicamente la evaluación sensorial de la piel de pescado, es importante detallar lo que constituye una evaluación sensorial, para lo cual se toma como referencia lo expuesto por la FAO (1998), donde señalan que la evaluación sensorial es una disciplina científica, empleada para evocar, medir, analizar e interpretar reacciones características del alimento, percibidas a través de los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y audición.

La mayoría de características sensoriales demandan el empleo exhaustivo de la mano del hombre, sin embargo, dados los avances de la ciencia se han ido creando instrumentos capaces de medir parámetros incluidos en el perfil sensorial, tal es el caso del Instron y el Reómetro de Bohlin, para medir la textura y otras propiedades reológicas, mientras que los métodos microscópicos en combinación con el análisis de imágenes se emplean para determinar cambios estructurales (Nanto *et al.*, 1993; citado por FAO, 1998).

La evaluación sensorial es muy importante en los productos de pesca, pues constituye el único método para medir los cambios en este recurso a partir de su muerte y durante todo el deterioro, en ese sentido los cambios asociados a la pérdida de frescura son de tipo autolítico, debido a la variedad de enzimas presentes en el músculo, que se incorporan a reacciones degradables (INFOPECSA, 2003; citado por Avdalov, s.f).

Según FAO (2014), en las observaciones de la frescura de la piel se debe visualizar la pigmentación del pescado que sea brillante, sin presentar ninguna decoloraciones, el mucus de la misma sea transparente y acuoso, mientras que al pasar el tiempo la pigmentación va perdiendo el brillo volviéndose opaco sin lustre con decoloraciones y el mucus lechoso opaco.

El estado de la piel y su textura comprenden algunas características que se van modificando una vez muerto el ejemplar, por ello es importante conocer cómo se produce el análisis de dichos componentes, para ello autores como Avdalov (s.f), señalan que con ayuda de la presión de los dedos sobre el pescado se produce una

óptima comprobación de su textura y frescura, pues a medida que avanza el deterioro la piel se va tornando más flácida, menos elástica y se desgarrar con la menor presión.



Figura 3: A la izquierda, ejemplar de pacú (*Piaractus mesopotamicus*) con la piel fresca, a la derecha ejemplar de pacú con la piel deteriorada.

La figura 3 muestra como un ejemplar de pacú se deteriora con el pasar del tiempo y va cambiando la coloración de la piel. Avdalov (s.f), refiere que durante el proceso de degradación del pescado existe una hidrólisis gradual del glicógeno ácido láctico, disminuyendo el pH, provocando pérdida de la capacidad para ligar agua del músculo, lo cual trae como consecuencia cambios en la textura y apariencia, hallando presencia de mucus inicialmente acuoso y claro en la piel y branquias, pero que después se vuelve amarillento, significando un indicador de descomposición; de ese modo, la piel con el deterioro va perdiendo gradualmente su aspecto brillante e iridiscente, el peritoneo se vuelve opaco, y va perdiendo su capacidad de adherencia a la pared interna de la cavidad abdominal.

2.5 Otros usos de la piel de pescado

Según Panchana (2013), la piel de pescado constituye materia prima para la elaboración de cueros y asimismo para la confección de ropa y zapatos, los cuales desde el año 2005 vienen siendo exportados a Estados Unidos por el empresario Gustavo Baca, la piel de este recurso no solo es empleada en nuestro país con dichos fines, pues en Colombia la piel de pescado se ha venido empleando para la producción de zapatos, carteras y otras

artesanías, constituyéndose como materia prima codiciada y beneficiando a la mano de obra artesanal.

En ese sentido, ITP (2014) desarrolló el estudio para la implementación de procesos de curtiduría, ambientalmente amigable, con residuos de piel de la especie paiche, como materia prima para la elaboración de productos de cuero (como zapatos, correas, billeteras, etc), con un monto ejecutable de 85.915,00 dólares para su desarrollo.

2.6 Piel de la especie paiche (*Arapaima gigas*)

A nivel general es importante señalar que la capa dermis de los peces juega un rol importante en la formación de escamas y estructuras relacionadas con ella, a su vez esta capa contiene vasos sanguíneos, terminaciones nerviosas, órganos sensoriales cutáneos y tejido conectivo; igualmente se suelen encontrar papilas gustativas y táctiles (Tratado de cooperación amazónica, s.f).

En ese sentido, el paiche es uno de los peces de escama más grande de aguas continentales del mundo, sus escamas poseen forma redonda, gruesa y de gran tamaño, de igual manera, la porción posterior del cuerpo posee una coloración roja intensa (Ferrari, 2003; Berra, 2004; Nelson, 2006; citado por Carbajal-Vallejos *et al*, s.f).

Por su parte el Portal de Acuicultura (2009) recalca que el paiche (*Arapaima gigas*) es uno de los peces más grandes del mundo, habitante de aguas Amazónicas de Perú y Brasil, constituyéndose como una especie en proceso de convertirse en uno de los más apreciados y valorados de su categoría, no sólo por el sabor de su carne que apenas contiene espinas, sino también por su piel.

La piel de paiche es de color pardo oscuro en la cabeza y el dorso, su parte abdominal es blanca, siendo los costados un poco rosados, constituye una presa codiciada para los pobladores locales, las escamas son aprovechadas para la confección de artesanía, teniendo mucha demanda como pez ornamental, sobre todo en su etapa juvenil (Matute *et al.*, 2009).

El INPA (2009) citado por Portal de Acuicultura (2009), refiere que la piel del paiche supone el 10% del peso del animal, generando más ingresos para la cadena de productores, a su vez presenta ventajas con respecto al bovino, pues sustenta más tensión ya que sus fibras son entrelazadas, mientras que las de la piel vacuna están acomodadas en paralelo.

Cabe recalcar que en cuanto a referencia bibliográfica respecto a las bondades de la piel de paiche se halló escasa información, pese a ello, ITP (2014), refiere que la piel de este pescado amazónico posee grandes propiedades, de igual manera, los costos en producción de curtición de su piel, vienen causando expectativa en empresarios emprendedores.

Según ITP (sf), en la actualidad, CITECCAL Lima y Amazon Harvest han iniciado un proyecto denominado “Implementación de un proceso de curtiduría amigable al medio ambiente con residuos de piel de paiche como materia prima para la elaboración de productos de cuero”, con el objetivo de brindar valor agregado al sector acuícola de la selva peruana, de ese modo, el cuero transformado sería empleado en la fabricación de calzado y artículos de marroquinería.

2.7 Proteínas

Según FAO (1993) citado por Vela (2013) el pescado y los productos pesqueros, como otros productos de origen animal, contienen agua, proteínas y otros compuestos de nitrógeno, lípidos, carbohidratos, minerales y vitaminas; en ese sentido, las proteínas y los lípidos son los principales componentes del pescado, constituido a su vez por micronutrientes esenciales y minerales que contiene dicho recurso, tales como, vitaminas B, A, D, fósforo, hierro, calcio, magnesio, selenio y yodo.

En ese sentido, Sánchez (1961) citado por Campos (2001), resalta que el paiche es un pez con poco contenido de grasa y su composición proteica es de 36.5%, según datos del estudio realizado por dicho autor.

Por su parte, Alcántara *et al.* (2006), sostienen que para mediados del siglo XIX, el paiche salado se convirtió en la principal fuente de proteína de la Amazonía, especialmente en los pueblos y ciudades.

2.7.1 Proteínas estructurales

Estas proteínas hacen referencia a la actina, miosina, tropomiosina y actomiosina, las cuales constituyen del 70 a 80 % del contenido total de proteínas, esta información resulta de gran importancia ya que en mamíferos esta tipología proteica sólo se reduce al 40%; por último, estas proteínas son solubles en soluciones salinas neutras de alta fuerza iónica (0,5 M) (FAO, 1998).

Por su parte Vela (2013), considera este tipo de proteínas como miofibrilares, las cuales componen el aparato contráctil o miofibrilla de la célula del músculo, siendo la miosina y la actina las que actúan directamente en el ciclo de contracción-relajación, en ese sentido, estas proteínas son responsables de los movimientos musculares.

Algunos autores detallan que las moléculas de miosina forman los filamentos gruesos y constituyen cerca de la mitad de las proteínas del aparato contráctil, esta molécula contiene dos subunidades, las cuales se denominan; cadenas pesadas y cadenas ligeras, por otro lado y respecto a la actina esta es considerada una proteína globular (G- Actina) que se polimeriza en concentración salina fisiológica para formar filamentos denominados Actina-F, esta proteína es el principal componente de los filamentos delgados, por último se encuentra la tropomiosina, la cual es una de las principales proteínas reguladoras que se compone por dos cadenas de aproximadamente 33 kDa, la proporción de las dos subunidades (a y b) varía con el tipo de fibra del músculo, cabe recalcar que esta proteína se une estequiométricamente con la actina (1:7 mol/mol) y con la troponina (1:1 mol/mol) (Jonghson *et al.*, 1990; Ruiter, 1999; citados por Vela, 2013).

2.7.2 Proteínas sarcoplasmáticas

Están compuestas por mioalbúmina, globulina y enzimas, dichas proteínas son solubles en soluciones salinas neutras de baja fuerza iónica (0,15 M) constituyendo del 25 al 30% del total de proteínas (FAO, 1998).

Por otro lado, FAO (1998), sostiene que en su normalidad este tipo de proteínas comprende alrededor del 15 al 30% del total de las proteínas del músculo de los animales acuáticos, siendo más alto el contenido en proteínas sarcoplasmáticas en peces pelágicos y más bajo en peces neríticos.

Las proteínas de la fracción sarcoplasmática se encuentran correctamente adaptadas y permiten distinguir entre diferentes especies de peces, dado que las diferentes especies tienen su patrón de banda característico cuando son separadas mediante el método de enfoque isoelectrico, dicho método fue introducido satisfactoriamente por Lundstrom en el año de 1980 y viene siendo empleado por laboratorios en diversas especies de pescados (Rehbein, 1990; citado por FAO, 1998).

Cabe recalcar que la mayor parte de las proteínas sarcoplasmáticas de los peces pelágicos se coagulan al ser calentadas en agua o encima de los 50°C, por el contrario solo el 65 al 75% de la proteína sarcoplasmática de los peces neríticos se coagula por el calor (Susuki, 1981; citado por Vela, 2013).

Es importante señalar que las proteínas sarcoplasmáticas del pescado tienen, en términos generales, las mismas clases funcionales de enzimas que en mamíferos, aves y reptiles, por tal motivo, todas las clases de enzimas (oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas e isomerasas) están presentes en el músculo de los peces, además la mayor parte de las proteínas sarcoplasmáticas son enzimas que participan en el metabolismo celular, como en el caso de la conversión de energía anaeróbica del glucógeno a ATP, dicho esto si los organelos dentro de las células musculares se rompen, pueden también estar presentes en la fracción proteica las enzimas metabólicas localizadas dentro del retículo endoplasmático, las mitocondrias y los lisosomas (FAO 1998; Vela, 2013).

2.7.3 Proteínas del tejido conectivo (colágeno)

Estas proteínas constituyen aproximadamente el 3% del total de las proteínas en teleósteos y cerca del 10% en elasmobranquios, mientras que en mamíferos se presentan en un 17% (FAO, 1998).

Según Ruitter (1999) citado por Vela (2013), los tejidos conectivos o conjuntivos se encuentran localizados principalmente en la matriz extracelular y contienen pocas células vivas en una sustancia amorfa compuesta por carbohidratos, lípidos y demás proteínas.

Cabe recalcar que las propiedades químicas y físicas de las proteínas de colágeno variarán de acuerdo al tipo de tejido, tales como; la piel, vejiga natatoria y los miocomatas del músculo (Mohr, 1971; citado por FAO, 1998).

Por consiguiente, Sato *et al.* (1989) citados por FAO (1998), afirman que las fibras de colágeno forman una delicada estructura de redes, cuya complejidad es variable, según los diferentes tipos de tejido conectivo, siguiendo un patrón similar al de mamíferos; pese a ello, el colágeno en peces es mucho más termolábil y contiene menos entrecruzamientos que el colágeno presente en los vertebrados de sangre caliente, la información referida se puede apreciar a detalle en la figura 4 (de Paz, 2006).

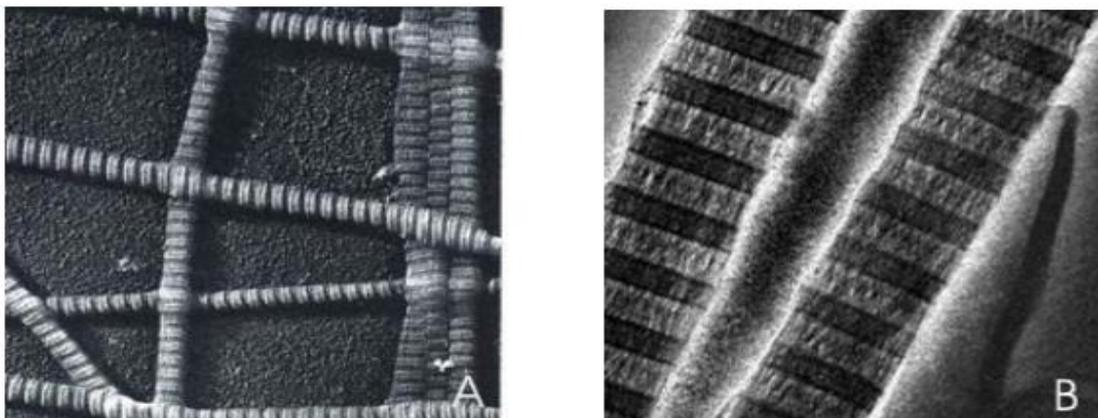


Figura 4. Micrografía electrónica de las fibras de colágeno. A. Visión general. B. Detalle.

Cabe señalar que la fracción insoluble que queda después de haber extraído las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares del músculo contienen proteínas del estroma, las cuales dan lugar a dos tipos principales; la elastina y otra de tejido conjuntivo denominada colágeno, el cual es un elemento contenido en los tejidos corporales de diferentes especies, lo cual lleva a generar la teoría de que “la distribución del colágeno puede reflejar el comportamiento natatorio de las especies” (Yoshinaka *et al.* citado por FAO, 1998; Vela, 2013).

2.7.3.1 El colágeno

El colágeno es una escleroproteína que posee una estructura fibrosa y es muy poco soluble en agua, forma parte de la matriz extracelular del tejido conectivo y se encuentra en la piel, huesos, tendones, cartílagos, entre otros; teniendo una estructura característica en cada uno de estos tejidos de acuerdo con la función que desempeña en ellos (Teijón, 2006; citado por Romero, 2016). De igual manera, de Paz (2006), refiere que esta proteína es la más abundante del reino animal, está presente en todos los phyla de metazoos estudiados y se encuentra prácticamente en todos órganos y tejidos, a los que proporciona el armazón que les da forma y consistencia estructural.

La información anteriormente expuesta es respaldada por Mosquera (2014), quien a su vez afirma que la molécula del colágeno se compone en tres cadenas polipeptídicas helicoidales denominadas cadenas α , cada una de ellas conformada por aproximadamente 1000 aminoácidos.

Por otro lado, Whitford (2005) citado por Ramírez-Guerra *et al.* (2013), señalan que el colágeno es el componente mayoritario de la piel, tendones, ligamentos y huesos de organismos multicelulares.

A su vez, Gómez-Lizárraga *et al.* (2011) lo consideran como un biomaterial que proporciona soporte estructural y celular a diversos tejidos, el cual forma parte de la familia de las proteínas fibrosas, cuya fuente de procedencia resulta tener diversas propiedades.

De ese modo, la importancia del colágeno queda patentada en su alta concentración en todos los órganos, con porcentaje de pesos de algunos tejidos y órganos más representativos del ser humano, del 74% de la piel, 64% de la córnea, 50% del cartílago, 23% en el uso cortical entero, 12 a 24% en la aorta, 10% en el pulmón y 4% en el hígado (de Paz, 2006).

La estabilidad de esta proteína se debe principalmente a los entrecruzamientos intermoleculares que incluso después de solubilizarlo se conservan, por lo que generalmente las soluciones obtenidas contienen una mezcla de oligómeros (Gómez-Lizárraga *et al.*, 2011).

Según Torres-Arreola *et al.* (2008) esta proteína es el principal constituyente del tejido conectivo y juega un papel muy importante ya que es el encargado de unión entre varias células, por tal razón existe mucha relación entre la firmeza del músculo y el comportamiento del colágeno en organismos marinos.

En resumen, el colágeno es la principal y más abundante proteína fibrosa de los animales superiores, ubicada en el tejido conjuntivo, y que se sitúa cuantitativamente de acuerdo al peso del animal (Saavedra, 2003; citado por Cali, 2012).

2.7.3.2 Estructura y composición de los aminoácidos del colágeno

La molécula de tropocolágeno es la unidad básica de la fibra de colágeno, está comprendida como una hélice triple de tres cadenas polipeptídicas, cada una de ellas con aproximadamente 1000 residuos, dicha estructura helicoidal triple es característica de la molécula de colágeno, las cadenas individuales son hélices orientadas hacia la izquierda, con aproximadamente 3.3 residuos por vuelta, tres de estas cadenas se enrollan una alrededor de la otra hacia la derecha, con enlaces de hidrógeno que se extienden entre ellas, lo anteriormente expuesto se puede observar a detalle en la figura 5 (de Paz, 2006).

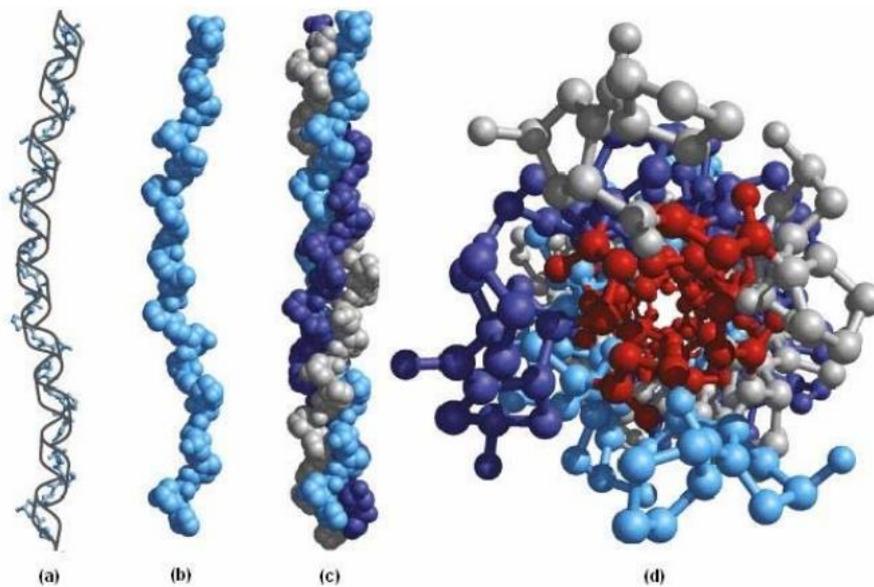


Figura 5. Estructura del colágeno (de Paz, 2006) a: secuencia helicoidal Gly X-Y, b: modelos de esfera de la hélice de colágeno, c: la molécula de tropocolágeno propiamente dicha, d: superhélice con tres moléculas de colágeno vista desde un extremo

Según Serrano (2011), el colágeno es excepcional en su extensa modificación de prolina a hidroxiprolina, la mayoría de los enlaces de hidrógeno entre las cadenas de la triple hélice se establecen entre protones amidas y oxígenos carbonilo, aunque los grupos OH de la hidroxiprolina también parecen participar en la estabilización de la estructura.

En referencia al colágeno, Prockop y Guzmán, 1981, señalan que la glicina constituye la tercera parte de los aminoácidos de cada cadena, hecho único entre todas las proteínas del organismo.

Lo expuesto anteriormente revela que cualquier otra cadena lateral distinta a glicina sería demasiado voluminosa, además la formación de las hélices individuales del tipo colágeno resulta favorecida por la presencia de prolina o hidroxiprolina en la molécula tropocolágeno, en ese sentido, un conjunto que se repite en la secuencia es la forma Gly X-Y, donde X suele ser prolina e Y, prolina o hidroxiprolina; cabe recalcar que para realizar adecuadamente sus múltiples funciones, el colágeno presenta un gran número de variantes genéticas en los organismos superiores, las fibras de colágeno de los

tendones tienen una resistencia comparable a la del cable de cobre, constituyéndose como altamente resistente (Prockop y Guzmán, 1981; Serrano, 2011).

Serrano (2011), indica que parte de la dureza del colágeno se debe al entrecruzamiento de las moléculas de tropocolágeno mediante una reacción que utiliza las cadenas laterales de la lisina, donde estas últimas se oxidan para dar lugar a derivados de aldehídos, que, a continuación pueden reaccionar con un residuo de lisina o bien unos con otros mediante una condensación aldólica y deshidratación para dar lugar a un entrecruzamiento, dicho proceso es dado a lo largo de la vida, y los entrecruzamientos que se acumulan hacen que el colágeno sea cada vez menos elástico y quebradizo.

2.7.3.3 Tipos de colágeno y su distribución tisular

De Paz (2006), el nombre colágeno es utilizado como genérico para nombrar a un conjunto de proteínas que forman una estructura de triple hélice característica de tres cadenas polipeptídicas, en ese sentido, todos los miembros de la familia del colágeno forman estas estructuras supramoleculares en la matriz extracelular, aunque su tamaño, función y distribución tisular varía considerablemente, dicho esto, los autores describen 26 tipos de colágeno genéticamente distintos.

A su vez, Karim y Bhat (2009) citados por Romero (2016), consideran que los tipos de cadenas que forman el tropocolágeno determinan el tipo de colágeno, identificando hasta la fecha 27 tipos, designados como tipo I al tipo XXVII.

Dicho esto, de Paz (2006), sostiene que los colágenos pueden ser considerados como una familia de proteínas, basando su principal clasificación en los tipos; fibrilar y no fibrilar, en consecuencia, la principal diferencia entre los colágenos fibrilar y no fibrilar es que los monómeros de este último contienen grandes unidades globulares, lo que implica que los monómeros del colágeno no fibrilar se auto ensamblen formando estructuras más complejas que las que se encuentran ordinariamente dispuestas en el colágeno fibrilar.

2.7.3.4 Colágenos formadores de fibrillas

Estos colágenos son similares en tamaño y se caracterizan por tener grandes dominios en la triple hélice con alrededor de 1000 residuos de aminoácidos o 330 repeticiones (Gly-X-Y-) por cadena (de Paz, 2006).

Según de Paz (2006), el colágeno tipo I: es el más abundante y estudiado de esta familia, pues compone alto porcentaje de la masa orgánica del hueso y es principal colágeno de los tendones, la piel, los ligamentos, la córnea y muchos tejidos conectivos intersticiales, con excepción del cartílago hialino, el cerebro y el humor vitreo.

2.7.5.5 Los colágenos no fibrilares

De Paz (2006) menciona que el colágeno tipo V es el principal colágeno no fibrilar del cuerpo y es el mayor constituyente de las membranas basales. El tipo VI y otra familia de colágenos menores se encuentran en pequeñas cantidades en diversos tejidos.

De otro modo Lizarbe (*s.f*) menciona que estas moléculas no están constituidas por una triple hélice continua, sino que continen dominios globulares en los extremos y también separando regiones en triple hélice.

2.7.5.6 Usos y aplicaciones del colágeno

La preocupación por la calidad de vida ha llevado a las personas a buscar y consumir productos saludables, que aporten en la mejora su salud y bienestar; así como, en la adquisición de hábitos alimenticios, adecuada estética y prevención de la aparición temprana de enfermedades degenerativas, dichas necesidades han contribuido en el aumento de investigaciones basadas en alimentos y/o ingredientes con propiedades terapéuticas adicionales a las funciones normales de nutrición (Ferreira y Barreto, 2012).

En ese sentido, Lee *et al.* (2001) citados por Ramírez-Guerra *et al.* (2013), consideran que el colágeno posee funciones estructurales y de soporte, permitiendo su uso para el desarrollo en nuevas formas estructurales de interés tecnológico, nutricional y biomédico.

A su vez, el colágeno contribuye a la integridad estructural de los tejidos conectivos del cuerpo, sin embargo, el paso de los años influye en la deficiencia de esta proteína, pues el cuerpo disminuye su producción, y empieza a necesitar suplementos, por tal motivo, ha habido un interés por la aplicación de colágeno en los complementos alimenticios, tales como; yogurt, salchichas, zumos, postres, gelatinas, pudín, etc; dichos alimentos adicionados de colágeno pueden ser utilizados en tratamientos para mejorar la elasticidad y firmeza de la piel y la prevención de enfermedades como la osteoartritis, osteoporosis, la hipertensión y la úlcera gástrica (Ferreira y Barreto, 2012).

La información señalada en el párrafo anterior es respaldada por Bae *et al.* (2008) citados por De la Torre (2013), quienes sostienen que las características químicas únicas de este elemento, han influenciado en su empleo hacia diversos campos de la industria, obteniendo aplicaciones en materiales biomédicos, industria farmacéutica, cosmética y en alimentos.

Durante los últimos años, el colágeno ha tenido una relevante importancia en el tema de los biomateriales, el cual es definido como una sustancia de materiales sintéticos y/o naturales que pueden utilizarse para reemplazar parcial o definitivamente una función que desempeña una parte del cuerpo humano, los biomateriales son elementos capaces de adaptarse al cuerpo humano y cumplir una función específica (Villela, 2004; citado por Serrano, 2011).

De la Torre (2013), refiere que esta proteína extraída se ha utilizado para la prevención y tratamiento de arrugas, así como desarrollo de medicamentos con liberación de sus principios activos, dentro de los productos creados para contrarrestar el envejecimiento, destacan; cremas, geles, lociones y mascarillas, además de inyecciones subcutáneas para aplicarse directamente en la piel; de igual manera, esta proteína ha servido para la creación de productos enfocados en la salud del cabello, tales como; shampoo,

acondicionadores y tratamientos capilares que eviten la aparición de signos de debilitamiento como la horquilla.

En relación al colágeno para el tratamiento de heridas, algunos autores sostienen que se han desarrollado productos como parches y apósitos o gasas, los cuales tienen grandes beneficios al momento de la cicatrización, evidenciando que la fuerza tensil de las cicatrices ha logrado aumentar en un 40% y reparación tisular se ha visto acelerada, disminuyendo la respuesta inflamatoria local, todo ello ha producido beneficios en la reducción de carga bacteriana (González Tuero *et al.*, 2004; citados por De la Torre, 2013).

La importancia de los biomateriales en la ingeniería de tejidos, ha dado mucho que hablar por la instauración de esponjas de colágeno como biomaterial, pues ha permitido la creación de implantes de tejido conectivo del hueso, sirviendo de prótesis para la regeneración del nervio y apósitos para heridas (Schoof *et al.*, 2001; citado por Serrano, 2011).

Resulta trascendental mencionar que el colágeno que se obtiene a nivel industrial proviene en su gran mayoría de piel y huesos de mamíferos terrestres, sin embargo dichas fuentes han disminuido en los últimos años, por problemas asociados a brotes de enfermedades, tales como; la encefalopatía esponjiforme bovina, fiebre aftosa y fiebre porcina, así como por aspectos socioculturales de algunos grupos religiosos y restricciones en su comercialización en algunos países, lo anteriormente expuesto ha promovido el aprovechamiento de fuentes alternativas de colágeno más seguras y saludables, como son algunas especies marinas o los subproductos provenientes de su industrialización, como la piel, cartílago, escamas y huesos (Nagai *et al.*, 2004; citados por Ramírez–Guerra *et al.* 2013).

No obstante, Montero y Gomes-Gillén (2000) citados por Ramírez–Guerra *et al.* (2013), recalcan que este tipo de colágeno comparte similitudes estructurales a las del colágeno de mamíferos terrestres, pese a ello, el comportamiento fisicoquímico entre ambos difiere cuantiosamente, lo que puede deberse en gran parte a las diferencias presentes en su estructura primaria (presencia y distribución de aminoácidos) que le permiten a la molécula adoptar otras formas e interacciones fisicoquímicas distintas, dichas características lo hacen atractivo y permiten su empleo como material tecno-funcional

capaz de retener agua, ser soluble, gelificar, formar coloides, emulsiones y espumas estables para la elaboración de alimentos funcionales, materiales de empaque biodegradable, películas fotográficas, productos de cosmetología y algunas otras aplicaciones en alimentos y medicina.

2.7.3.7 Estado del arte del colágeno

En el marco internacional según lo reportado por la base de datos Science Direct de la Universidad Nacional de Colombia desde el año 2000 hasta el 2010, se ha venido logrando un total de 63 registros en torno al tema de extracción de colágeno a partir de piel de pescado, siendo el año 2009 donde se ha observado mayor frecuencia de dichos registros (Serrano, 2011).

Siguiendo el marco internacional, uno de los primeros hallazgos en Japón referente a la extracción de colágeno fue el trabajo realizado Nagai y Suzuki, citados por Ramírez–Guerra *et al.* (2013), quienes tuvieron como objetivo describir la preparación de colágeno a partir de piel, hueso y aletas de pescado, además estudiar las propiedades térmicas de este colágeno, la investigación reporta la extracción de colágeno de pieles de variados peces, entre las que se encuentran; perca japonesa (*Lateolabrax japonicus*), caballa (*scomber japonicus*) y tiburón toro japonés (*Heterodontus japonicus*), los procesos de extracción y purificación de colágeno que emplearon los autores constaron de 8 etapas; eliminación de la grasa con alcohol, solubilización en medio ácido y procesos de centrifugación, precipitación salina, centrifugación, redisolución de la proteína, diálisis en medio ácido y por último liofilización, al cuantificar el colágeno en la muestra, mediante la técnica colorimétrica de cuantificación de hidroxiprolina, la perca japonesa se obtuvo 51,4 %, la caballa 49,8 % y para el tiburón toro japonés 50,1 %, porcentajes en base del peso seco liofilizado.

Otro procedimiento internacional de innovación científica en cuanto a la temática presentada fue el realizado en Colombia por Serrano (2011), quien decidió estandarizar un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de las especies; tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*), cuyos resultados indicaron que el rendimiento de colágeno ácido soluble fue de 33,3% en base seca,

mientras que el patrón de alto peso molecular utilizado para SDS – PAGE reveló que el colágeno obtenido de pieles de tilapia o de pieles de cachama es colágeno tipo I, finalmente la temperatura de desnaturalización (Td) del colágeno obtenido de piel de tilapia fue cercana a 29 °C mientras para el colágeno obtenido de piel de cachama fue de 33 °C.

Del mismo modo, existen diversos estudios en otros peces como la carpa (*Cyprinus carpio*), pez cabra dorado (*Parupeneus heptacanthus*), sardina (*Sardinops melanostictus*), besugo (*Pagrus major*) y pescado rojo de alta mar (*Sebastes mentella*); en la cual el colágeno ha sido extraído y caracterizado (Duan *et al.*, 2009; citados por Matmaroh *et al.*, 2011).

Los estudios antes reportados evidencian que existe diferencia en las características del colágeno extraído de acuerdo a las condiciones ambientales, alimentación, distribución geográfica, etc. del pez, pese a ello, es necesario profundizar en el tema (Jongjareonrak *et al.*, 2005; citados por Thuy *et al.*, 2013).

Aunado a lo anteriormente reportado, cabe señalar que existen diversos factores a controlar para tener un colágeno hidrolizado de excelente calidad, estos factores son la concentración de ácido al extraer, el tipo de ácido, la temperatura de extracción y el método de concentración, pues Wang *et al.* (2008), afirman que las altas temperatura pueden facilitar la conversión de colágeno en gelatina y así poder aumentar el rendimiento del extracto; pese a ello, temperaturas altas pueden cambiar la conformación del colágeno lo que puede causar que la solubilidad sea menor.

Según, Skierka y Sadowska, 2007; citados por Wang *et al.*, (2008), existe referencia que ácidos orgánicos, como el ácido cítrico, láctico o acético, son muy utilizados en la extracción de colágeno directamente de tejidos de animales, a su vez los ácidos inorgánicos, como el ácido clorhídrico, también son empleados en la extracción de esta proteína; sin embargo su uso es menor ya que genera bajo rendimiento; para mejor detalle de estos componentes es importante señalar que el ácido acético es uno de los ácidos orgánicos más ampliamente utilizados en la extracción de colágeno, debido a su alta extractabilidad, por otro lado la solubilidad del ácido acético puede afectar la

extracción del colágeno, igualmente la ciencia ha dado a conocer que valores altos de ácido en la concentración causan impactos negativos en el rendimiento, ya que el valor de pH afecta la interacción y estructura de las proteínas.

Es importante mencionar el hallazgo de Romero (2016), cuyo objetivo fue obtener gelatina de piel de perico (*Coryphaena hippurus*) y caracterizar sus propiedades fisicoquímicas, el autor evaluó tres variables independientes sobre las condiciones de extracción de gelatina para optimizar el proceso en función a la fuerza de gel y al rendimiento de extracción de proteína, los valores de las variables independientes que se utilizaron para obtener una gelatina con los máximos valores de las respuestas fueron: temperatura 56,8 °C, tiempo 331 minutos y concentración de ácido cítrico 0,26 %, los resultados dieron a conocer que la gelatina obtenida.

En ese sentido, los trabajos realizados en diferentes especies marinas y continentales han dado pie a la toma de interés científico en la extracción de colágeno a través de peces como el paiche, dicho esto a algunos autores les resultó imprescindible caracterizar el tipo de colágeno hidrolizado extraído para su comercialización y posterior difusión al público consumidor, de igual forma, es importante resaltar que el colágeno es la principal proteína estructural de los vertebrados y la más abundante proteína de mamíferos, constituyendo aproximadamente del 20 al 30% de las proteínas corporales totales, a su vez, el empleo de dicha proteína en aplicaciones médicas ha sido exitosa durante años debido a la biocompatibilidad y seguridad que posee para formar fibras con alta resistencia y estabilidad, lo que permite que sea útil en sistemas de administración de fármacos (Lee *et al.*, 2001; citado por Wang *et al.*, 2008).

2.8 Fuerza gel

Es una medida que se relaciona íntimamente con las fuerzas cohesivas del film y se usa para caracterizar las gelatinas, otorgándoles valores medidos en gramos por centímetro cuadrado o grados Bloom (gB), los rangos de la fuerza gel van desde las colas de huesos más débiles (30 gB) hasta las colas de piel más fuertes (500 gB), al momento de preparar soluciones de gelatina, las que presenten mayor fuerza gel necesitaran una

menor concentración del gel para tener la misma adherencia o cohesión, cabe recalcar que los grados Bloom son medidos en gr. /cm^2 (Bailach *et al.*, 2012).

En ese sentido, de Sousa (2010), afirma que la gelatina de alto Bloom ofrece ciertas ventajas a sus aplicaciones como el alto punto de fusión y solidificación, el uso de cantidades más pequeñas, más ligeras de color y un mejor olor y sabor.

Por su parte, Romero (2016), ubica a la fuerza gel dentro de las propiedades físicas de las gelatinas, considerándola como la más importante de todas, pues define su valor comercial.

En cuanto a los valores de viscosidad relacionados con la resistencia del gel, sus valores oscilan típicamente entre 1,5 a 7,5 mPa/s, medidos por el tiempo en movimiento de un solución de gelatina a 6,67 % a través de un viscosímetro a 60°C, siendo más frágiles las gelatinas con alta viscosidad (de Sousa, 2010).

Cabe destacar que la fuerza de gel de las gelatinas comerciales, como ganado ovino, entre otras, varía desde los 200 a 300 gramos, pese a ello, las gelatinas con valores entre 250 y 260 gramos son las más deseadas; por otro lado, las gelatinas de peces de aguas cálidas pueden alcanzar valores de fuerza de gel entre 229 y 426 g (Muyonga *et al.*, 2004; citado por Romero, 2016).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Lugar de ejecución

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Procesos y Química de Recursos Hidrobiológicos de la Facultad de Pesquería de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.2 Materia prima

En la investigación se utilizó como materia prima piel de paiche (*Arapaima gigas*), los que fueron proveídos por la empresa Silver Corporation S.A.C. Las pieles fueron evaluadas sensorialmente para verificar su estado de frescura. Estas pieles fueron extraídos de pescados que tuvieron una edad entre 6 meses y 1.5 años de edad.

3.3 Materiales y equipos

3.3.1 Materiales de vidrio

Los materiales de vidrio empleados en la investigación fueron; baguetas, vasos de precipitación de 50 ml y vasos de precipitación de 500 ml., peras decantadoras de 500 ml. y 1000 ml, fiolas de 250 ml.

3.3.2. Materiales de limpieza

Se utilizaron como materiales de limpieza; bolsas para basura, paños de limpieza, jabón, desinfectante y detergente.

3.3.3. Otros materiales

Como materiales adicionales para la investigación se emplearon; agua destilada, cuchillo, tabla de picar, canastillas, tocullo y bolsas de polietileno.

3.3.4 Equipos

- Balanza analítica, marca Sartorius TE 214S, con carga máxima de 210 g, cuya precisión es de 0.1 mg.
- Balanza digital, marca Superss 3S/New Su, con carga máxima de 15 kg, cuya precisión es de 2 g.
- Potenciómetro, marca Termofix ATC
- Baño maría, marca Memmert, sin modelo, serie: 10-T-3.
- Termómetro digital (marca CPS; modelo TM50. USA).
- Refrigeradora doméstica (marca: LG).
- Secador (MLM BSU 100)

3.3.5 Reactivos químicos

- Hidróxido de potasio químicamente puro.
- Ácido sulfúrico (97% p/v)
- Catalizador de sulfato de potasio (97% p/p)
- Indicador de Tashiro (rojo de metilo y azul de metileno)
- Éter etílico o de petróleo, o hexano.
- Sulfato cúprico (3% p/p)

3.4 Métodos de Análisis

3.4.1 Análisis químico proximal

Las pruebas que se realizaron en el producto final fueron las siguientes:

- Humedad, AOAC 934.01 (2012).
- Cenizas, AOAC 942.05 (2012).
- Grasa por método Soxhlet con hexano, AOAC 920.39 (2012).
- Proteínas por método Kjeldahl, AOAC 954.01 (2012).

3.4.2 Análisis microbiológico

Se realizó en el producto final de acuerdo al DS 007. 98 (Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas) análisis microbiológico para gelatina

- Coliformestotales, ICMSF (1983).
- *Staphylococcus aureus*, ICMSF (1983).
- Mohos y levaduras, ICMSF (1983).

3.4.3 Determinación del pH

Se realizaron las mediciones del pH durante el proceso, siguiendo las recomendaciones de la norma NTP-ISO 2917 2005.

3.4.4 Determinación de fuerza gel

Para ello se construyó un gelómetro, cuyo fundamento fue descrito por Gordillo (1973), acondicionándolo a las facilidades que se encontraron en el laboratorio y cuyo diseño se puede apreciar en la figura 6.

- **Embolo y soporta pesos**

Este consta de un pequeño cilindro de plástico cuya cara interior tiene un área de un centímetro cuadrado y su parte interior va unido a un soporta pesos o varilla de metal lo más delgado posible y de suficiente fortaleza como para soportar el peso del agua que se le adiciona al recipiente que sostiene el soporta pesos.

- **Guía del émbolo y soporta pesos**

Constituida por un tubo de aluminio cuyo diámetro inferior es ligeramente mayor que el diámetro exterior del soporta pesos que lo atraviesa de tal manera que impida desplazamientos laterales de este, y que variarían el contacto horizontal del cilindro y la superficie del gel.

- **Soporte general**

Que es un soporte común de laboratorio al que por medio de una pinza está unido a la guía del émbolo y que en su parte superior sostiene un embudo de separación de 1000 ml. de volumen que contiene el agua que se verterá al recipiente y que producirá el peso necesario que romperá la superficie del gel.

- **Vaso de precipitado (50 ml)**

Donde se coloca la muestra de gel del colágeno. Por medio de esta prueba se obtiene el número de gr/cm^2 que es capaz de soportar el gel preparado a partir de una solución de 6.67% de colágeno gelificado.

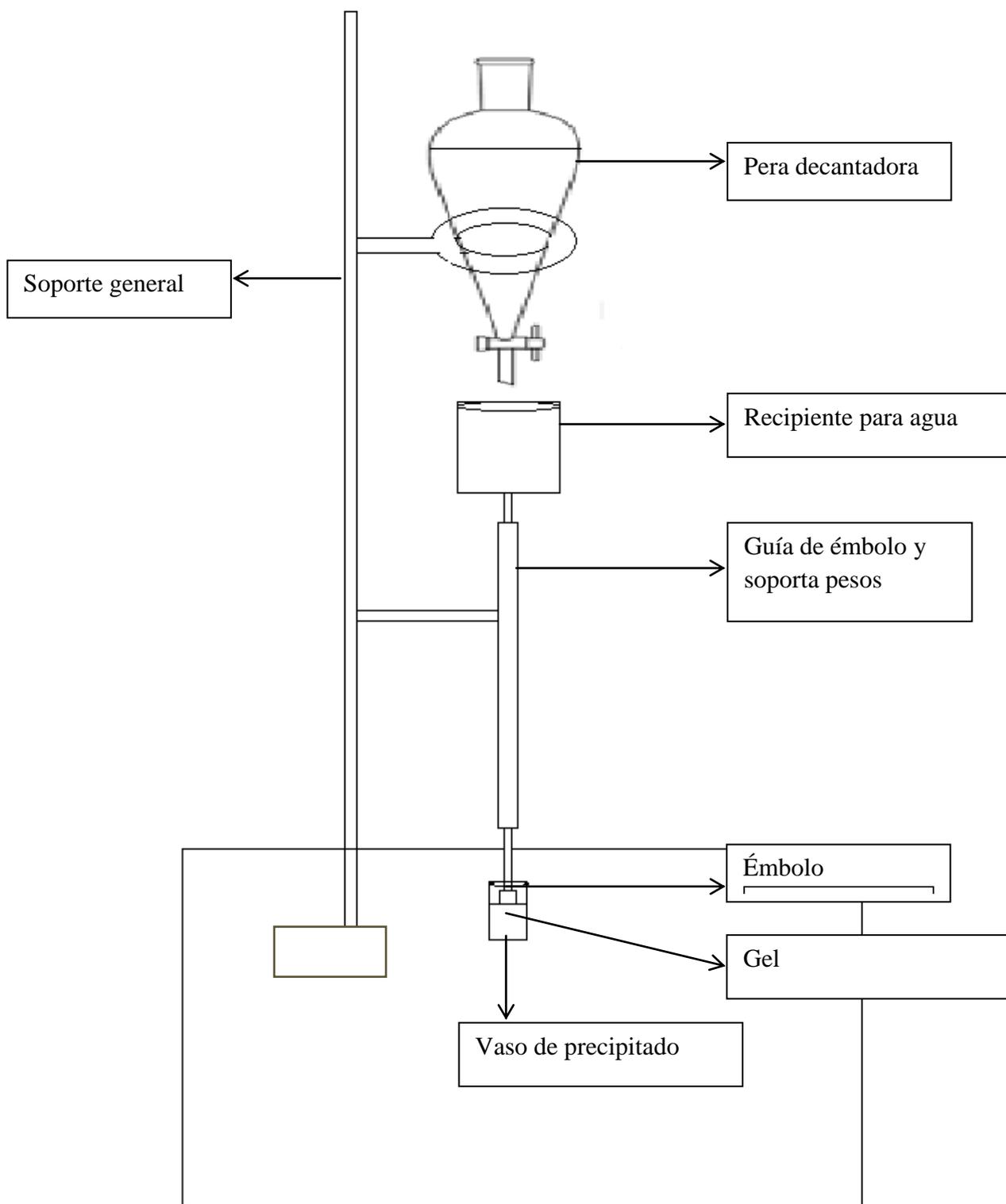


Figura 6. Diseño del dispositivo para medir la fuerza gel del colágeno extraído

3.5 Metodología Experimental

Para la extracción del colágeno a partir de la piel de paiche se utilizó el flujograma propuesto por Shyni *et al.* (2013),

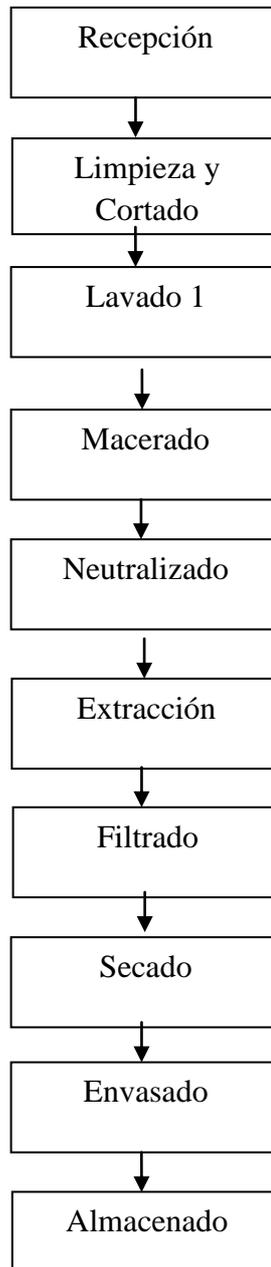


Figura 7. Flujograma para la extracción de colágeno de piel paiche

Una breve descripción del proceso es la siguiente:

- **Recepción de piel de paiche**

Las pieles proporcionadas por la empresa Silver Corporation S.A.C, fueron recepcionadas en cajas de poliestireno en sistemas de refrigeración a una temperatura de 5°C, posteriormente se procedió con la evaluación sensorial.

- **Limpieza y Cortado**

La piel se limpió de forma manual, para eliminar músculo adherido a la superficie de la piel. Además de ello fue cortada en listones de dos centímetros de ancho y diez de largo aproximadamente para tener un mejor manejo.

- **Lavado 1**

Una vez limpios y cortados los listones de piel fueron lavados con abundante agua, para de esta forma eliminar restos de músculo u otros elementos físicos.

- **Macerado**

En este proceso se realizó la primera etapa experimental, en donde los listones se sumergieron en una solución de hidróxido de potasio (KOH) en tres concentraciones diferentes y se evaluaron las características de la piel después cada hora hasta encontrar las mejores. La relación de peso de piel: volumen de solución fue de 1:5 (p/v).

- **Neutralizado**

Para neutralizar los listones de piel se procedió a realizar lavados sucesivos con una duración de 10 minutos cada uno con la finalidad de eliminar el KOH de la piel y lograr la neutralidad; se midió pH al final de cada lavado.

- **Extracción**

Una vez neutralizados los listones de piel se procedió con la extracción, se colocó la muestra (150 g.) en un vaso precipitado con un volumen de agua 5 veces mayor que la piel (1:5) y se llevó a baño maría de temperatura controlada. Se probaron 3 temperaturas diferentes. Se realizaron mediciones de fuerza gel (gr/cm²) cada media hora hasta la tercera hora de extracción con la finalidad de encontrar el mejor tratamiento.

- **Filtrado**

La solución de colágeno extraído en la etapa anterior fue filtrada a vacío con papel filtro whatman N° 2, con la finalidad de retener restos de piel, escamas o agentes externos al colágeno.

- **Secado**

La solución filtrada fue puesta en recipientes de 60 cm. de largo y 30 cm. de ancho con el objetivo de formar una lámina delgada y sea más fácil y rápido el secado. La solución de colágeno extraído se deshidrató por medio de un secador con aire forzado a una temperatura de 30°C.

- **Almacenado**

El colágeno en láminas fue puesto en bolsas de polietileno de alta densidad y se almacenó en un lugar seco y libre de la luz.

3.5.1 Primer experimento: Maceración de listones de piel de paiche en tres diferentes concentraciones de hidróxido de potasio (KOH).

En esta etapa los listones de piel de paiche fueron sometidos a tres concentraciones diferentes de hidróxido de potasio, 0.1N (T₁), 0.5N (T₂) y 1N (T₃), se evaluaron cada hora hasta obtener las mejores características, en esta etapa lo que se evaluó fue el desprendimiento de escamas y la hinchazón de la piel teniendo en cuenta el factor tiempo.

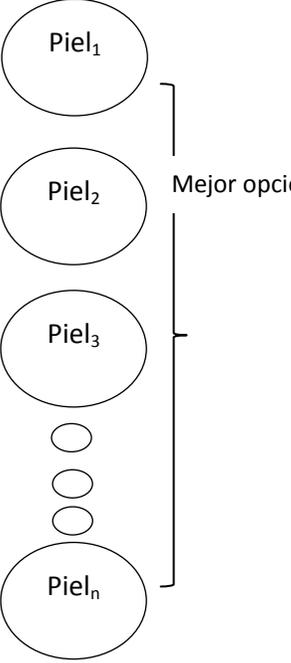
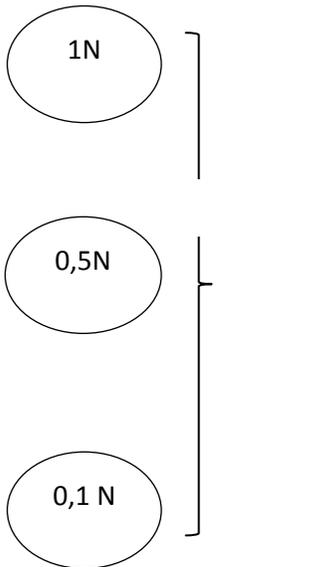
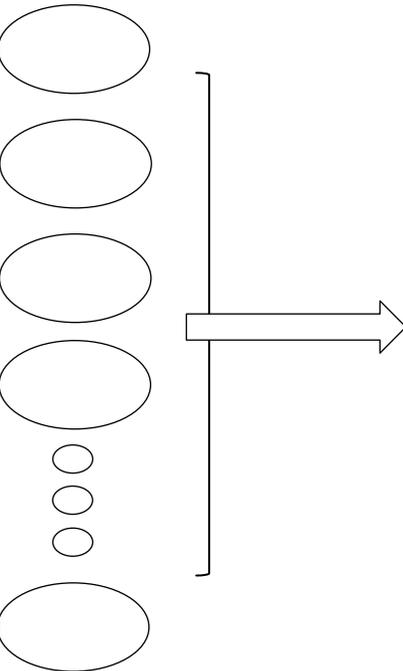
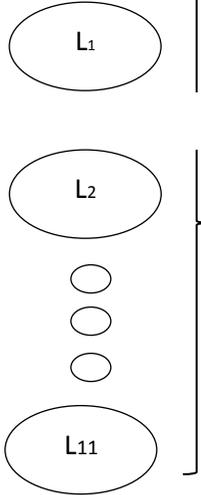
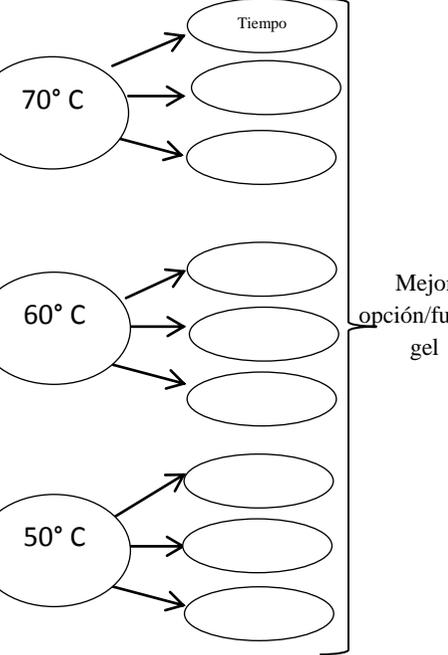
3.5.2 Segundo experimento: Neutralización de listones de piel de paiche macerados.

Los listones de piel macerados se sometieron a lavados sucesivos de 10 minutos cada uno con la finalidad de obtener valores de pH lo más cercano a la neutralidad (pH= 7). Este experimento ayudó a establecer una ecuación para determinar el valor de pH deseado luego del macerado, en base al número de lavados a realizar.

3.5.3 Tercer experimento: Determinación de tiempo y temperatura de extracción de colágeno de listones de piel de paiche.

Se llevó a cabo a tres diferentes temperaturas de extracción, 50 °C (T₁), 60 °C (T₂) y a 70 °C (T₃), en donde la variable respuesta para determinar cuál fue la mejor fue la fuerza gel resultante después de cada media hora de cada tratamiento, se realizaron tres repeticiones. Los resultados fueron validados estadísticamente utilizando el modelo estadístico diseño de bloques completamente al Azar (DBCA) para ver si existe diferencia significativa entre los tratamientos y complementado con un test de Tukey para encontrar el mejor tratamiento.

Tabla 5. Diseño experimental de las diferentes etapas a evaluar en la extracción de colágeno

Evaluación de la materia prima	Macerado: se realizó Hidróxido de Potasio (KOH).	Número de horas en observación/Macerado	Neutralización (Abundante agua)	Extracción
			<p>Con agua hasta un pH neutro</p> 	
<p>Se eligieron las pieles con las mejores condiciones de frescura. Se evaluó olor, elasticidad y color.</p>	<p>El macerado se realizó en una proporción 1:5 (piel: solución).</p>	<p>Las variables a evaluadas fueron hinchazón y desprendimiento de escamas, las evaluaciones se realizaron cada hora, desde la hora uno hasta la doceava.</p>	<p>Se realizarán lavados con abundante agua hasta llegar a pH neutro. Los lavados fueron realizados en batch de 10 minutos.</p>	<p>Se probaron tres temperaturas, se evaluó la fuerza gel en cada ½ hora de extracción.</p>

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Evaluación sensorial de la piel

Las pieles de paiche recepcionadas presentaron una adecuada apariencia, se encontraban brillantes, tenían olor a fresco, las escamas estaban adheridas a la piel, además de presentar buena elasticidad y no se desgarraron al estirarlas.

Con respecto a las características de la piel de paiche fresca, es importante mencionar su porcentaje de escamas en relación a la piel, éste se encuentra en un aproximado de 40% (p/p), además de que se encuentra incrustadas a la piel por lo que el uso de hidróxido es muy importante para lograr su retiro (Shyni *et al.* 2013).



Figura 8. Piel de paiche recién cortado

Avdalov (sf) menciona que a medida que avanza el deterioro de la piel ésta se va tornando más flácida, menos elástica y se desgarran con la presión. Los resultados de las evaluaciones determinaron que las pieles utilizadas se encontraban en estado óptimo de conservación.

Las repetidas y constantes evaluaciones de la piel de paiche permiten proponer la siguiente tabla de evaluación sensorial.

Tabla 6: Evaluación sensorial de la calidad de la piel de paiche

Parámetro	Característica	Puntuación	Puntaje
Piel de paiche	Apariencia o color	Muy brillante	0
		Brillante	1
		Opaca	2
	Olor	Fresco, a mar	0
		Neutral	1
		Humedad, mal olor; 2	2
	Desprendimiento de escamas	Cero desprendimientos; 0	0
		De cero a 20%	1
		Mayor a 20%	2
	Elasticidad (al ser presionada con el dedo)	Regresa en menos de un segundo	0
		Demora en regresar hasta dos segundos, aproximadamente	1
		Demora en regresar, más de dos segundos	2

4.2 Primer experimento: Maceración de listones de piel de paiche en tres diferentes concentraciones de hidróxido de potasio (KOH)

En la figura 9 se muestran los listones de piel limpios y lavados listos para ser sometidos al proceso de maceración. Es importante recalcar la limpieza de las pieles, ya que constituye una de las operaciones más importantes antes de iniciar el proceso de macerado, si no se realiza de forma correcta el hidróxido no puede penetrar en todas las partes de la misma, pudiendo ocasionar de esta forma mermas en el porcentaje a extraer y también en la calidad del colágeno (Serrano, 2011).



Figura 9. Piel de paiche cortadas y lavadas

En esta etapa las pieles fueron maceradas por espacio de 12 horas a temperatura ambiente en las concentraciones mencionadas en la metodología experimental; en donde se pudieron observar diversos cambios en la piel, tales como el desprendimiento de escamas e hidratación de la misma, aumentando su volumen a más del doble (250 %), este aumento fue medido con el vernier.

Respecto a las concentraciones se probaron valores más altos de hidróxido, a partir de 0.1 N hasta 1 N, principalmente debido al grosor de la piel, en comparación a otros trabajos como Miano *et al.* (2011) quién investigó sobre gelatina de piel de tollo (*Mustelus mento*), que utilizó una concentración de 0.1 N de hidróxido de sodio por un tiempo de 48 horas, un valor relativamente bajo, principalmente porque controla la temperatura en todo la etapa (maceración) a 10 °C, esto es clave debido a también se controla la proliferación bacteriana que puede desarrollarse en la piel de pescado. En esta investigación se probaron hasta 12 horas de maceración debido a que trabajó con temperatura ambiente.

Es necesario mencionar que un indicador sensorial para determinar el mejor tratamiento de maceración fueron el desprendimiento de escamas y el hinchamiento de la piel. En

otras especies de pescado, tales como la tilapia, trucha, cachama o tollo; la extracción de escamas puede ser más sencilla debido a su tamaño y disposición. En relación a los resultados de la experimentación en el macerado, se observaron y calcularon los porcentajes tanto de desprendimiento de escamas como del incremento del espesor o hinchazón de la piel en donde se encontró una relación directamente proporcional, es decir, a más hinchazón el desprendimiento de escamas es mayor y viceversa. El desprendimiento de escamas se calculó contando las escamas desprendidas de la piel, respecto al valor inicial (antes del macerado) y el nivel de hinchazón tomando como referencia el nivel inicial de la piel (antes del macerado) midiéndolo con un vernier durante esta etapa.

Durante la investigación, al analizar la concentración de hidróxido de potasio 0.1N en listones de 1 cm de ancho y 5 cm de largo se observó que durante las cinco primeras horas la piel macerada sólo presentó un hinchamiento de medio centímetro y las escamas solamente lograron un desprendimiento del 20%. Luego de la sexta y hasta la novena hora se logró obtener un aumento del ancho de la piel de 1cm. y las escamas lograron un desprendimiento de un 40%. Desde la hora diez hasta la hora doceava las escamas lograron desprenderse hasta un 60% y la piel logra hincharse hasta centímetro y medio, posteriormente a ese tiempo no se evidenciaron más cambios en la muestra.

Con respecto a la concentración de 0.5 N el desprendimiento de escamas y la hinchazón de la piel no presentaron diferencias significativas con respecto al tratamiento anterior, es decir se llegó al mismo resultado, solo que en un menor tiempo. La piel llegó a hincharse un centímetro más respecto su valor inicial a partir de la cuarta hora de evaluación, con un desprendimiento de escamas del 20% al 40%, a partir de la novena hora se hinchó 1,5 cm con un desprendimiento del 60% de escamas.

Al evaluar la concentración de 1N los resultados obtenidos, desde la primera hora hasta la tercera hora mostraron que la piel logra hincharse hasta centímetro y medio con un desprendimiento de escamas de hasta un 60%. Hasta la octava hora se obtuvieron valores de desprendimiento de 80% y de hinchazón de 2 cm. De la novena hasta la doceava hora se obtuvo que el desprendimiento de escamas fuera del 100% y la hinchazón de la piel fue de dos centímetros y medio (figura 10 y 11).



Figura 10. Listón de paiche macerado, después de 12 horas a 1N de KOH



Figura 11. Piel de paiche macerada

La figura 11 permite observar, como influyó la concentración de hidróxido de potasio en la piel, haciendo que esta se hinchara y las escamas se desprendan de la misma. Por otro lado, se determinó que la concentración de hidróxido de potasio (1N) fue mucho más eficiente y que en un menor tiempo (9 horas), logró hincharse en su máximo nivel, debido a que hasta la hora 12 siguió manteniendo el mismo espesor de piel (3.5 cm aprox). Respecto a las concentraciones más bajas, después de 12 horas de tratamiento, las concentraciones de 0,1N y 0,5N hicieron que sólo el 60% de escamas se desprendan

de la piel y que la misma tenga una hinchazón de 1,5 cm. Cabe resaltar que la figura 12 ha sido elaborada en base a la tabla 7.

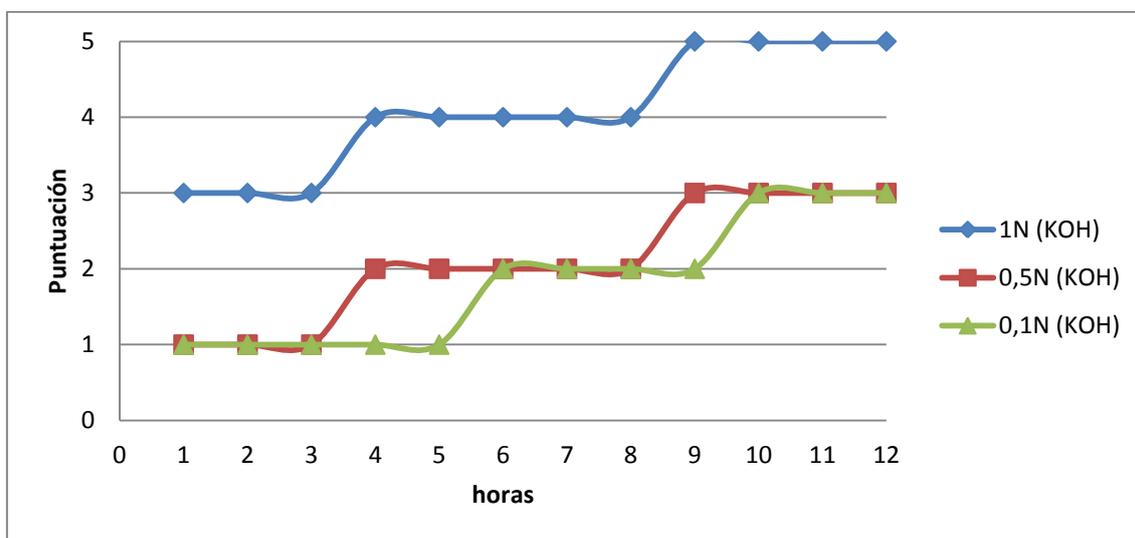


Figura 12. Evaluación del macerado por horas

Según Stainsby (1987) citado por Núñez (2013), un pre-tratamiento químico rompe los enlaces no covalentes y desorganiza la estructura proteica, produciendo por lo tanto un hinchamiento y solubilización del colágeno, esta cita hace referencia a lo encontrado en esta etapa. En otras investigaciones como en la de Serrano (2011), se concluye el tiempo y la concentración óptima de hidróxido en base a los sólidos totales del medio. En este trabajo se optó por el otro método (hinchazón y desprendimiento de escamas) debido las condiciones que se presentaban en los laboratorios de la FAPE-UNALM (Facultad de Pesquería de la Universidad Nacional Agraria La Molina).

Con los resultados de las evaluaciones realizadas en el trabajo de investigación se propone una tabla de evaluación de la piel de paiche en función del desprendimiento de escamas e hinchazón de la piel.

Tabla 7. Propuesta para la evaluación de proceso de macerado de la piel de paiche en función al porcentaje de hinchazón y desprendimiento de escamas

Puntaje	Características
1	de 0 a 20% de desprendimiento de escamas e hinchazón de 0 a 0,5 cm de piel
2	de 20 a 40% de desprendimiento de escamas e hinchazón de 0,5 cm a 1 cm de piel
3	de 40 a 60% de desprendimiento e hinchazón de 1 a 1.5 cm de piel
4	de 60 a 80% de desprendimiento e hinchazón de 1,5 a 2 cm de piel
5	de 80 a 100% de desprendimiento e hinchazón de 2 a 2,5 cm de piel

De otro lado se pudo observar que en la etapa de macerado hubo presencia de grasa en la solución y además que se tornó de color oscuro con lo que se puede determinar que el tratamiento con el hidróxido de potasio ayuda también a realizar un blanqueado de la piel (figura 13).



Figura 13. Desprendimiento de escamas de la piel de paiche

En esta figura 13 se puede notar que hay un proceso de saponificación de la grasas por efecto del hidróxido de potasio. Según Mateos *et al.* (1996), citado por Proaño *et al.*, (2015), la saponificación es una reacción química entre un ácido graso y una base, en la que se obtiene como principal producto la sal del ácido.

Serrano (2011), investigando la decoloración de la piel de tilapia, para eliminar compuestos no deseados en el producto final y además para no permitir que éstos puedan interferir en las etapas posteriores, utilizó hipoclorito de sodio como agente decolorante. Sus resultados demostraron que tratando a las pieles a una temperatura de 30 °C, una concentración de hipoclorito de sodio de 0,525% (p/v) y tiempo de contacto de 10 minutos hacen decolorar a las pieles. En esta investigación no fue necesario utilizar hipoclorito debido a que en esta etapa se visualiza como el pigmento y parte de la grasa de la piel se desprenden de la misma.

4.3 Segundo experimento: Neutralización de listones de piel de paiche macerados

Luego del macerado los listones de piel de paiche fueron lavados en abundante agua por inmersión por espacio de diez minutos cada uno, luego de ello se procedió a medir el pH de la muestra. Después de ocho lavados se llegó al valor de pH 7,14 en los listones de piel macerada y con ello se procedió a la siguiente etapa experimental, lo referido anteriormente se puede apreciar en la tabla 8.

Neutralizar las pieles luego del macerado es muy importante, debido a que a partir de ello se puede controlar el pH con el que se desea extraer el colágeno. Romero (2016) luego de macerar las pieles con NaOH por un espacio de 6 horas las enjuagó con agua hasta obtener un pH neutro, además menciona que esto hace más fácil la etapa de extracción. Serrano (2011) menciona que a valores más alejados del pH 7, tanto a pH ácido o básico, la solubilidad del colágeno es mayor, es decir, las moléculas de colágeno interactúan con la del agua; y a valores cercanos a lo neutral las interacciones hidrofóbicas aumentan permitiendo la floculación y la precipitación del colágeno.

Tabla 8. Resultados en la etapa de neutralización de los listones de piel de paiche macerados en solución de KOH

Lavados	pH	Tiempo (min.)
L0	12.80	0
L1	12.00	10
L2	11.19	20
L3	10.19	30
L4	9.57	40
L5	9.47	50
L6	8.29	60
L7	8.16	70
L8	7.14	80

Wang *et al.* (2008), mencionan que bajar el pH de la solución ayuda a aumentar el rendimiento del colágeno a extraer, porque éste se va a disociar en el líquido al formar puentes de hidrógeno con el agua; no obstante también el rendimiento puede disminuir por las diferentes interacciones que pueden tener la proteína del colágeno, pudiendo de esta manera también bajar la calidad del mismo. En esta etapa se quiso extraer el colágeno con la piel neutra y que ningún agente químico interactúe con el colágeno a extraer.

Los resultados nos indicaron que es posible disminuir el pH de la piel mediante lavados consecutivos con agua destilada. Si bien es cierto en este trabajo de investigación, no se ha probado un ácido, orgánico o no; sin embargo el principal objetivo de bajar el pH con agua fue demostrar que éste elemento podría hacerlo sin ningún inconveniente.

Una característica notable en la piel de paiche fue que luego de lavarla varias veces, comenzó a perder su capacidad de retención de agua, es decir, bajó el volumen de las mismas, esto puede ser explicado por la solubilidad de las proteínas presentes en la piel del paiche. Serrano (2011) define la solubilidad de las proteínas por su capacidad de adoptar 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.

Es necesario recordar la etapa de macerado, ya que allí se eliminan todas las proteínas en la piel que no pertenecen al colágeno, además de ello la piel se hincha, es decir absorbe el agua, al parecer en los lavados con agua destilada los enlaces de puente de hidrógeno entre el colágeno y la piel se rompen, y es por este motivo que el volumen de la piel disminuye, además como el pH del agua baja hasta llegar a ser neutro, es posible que se llegue al punto isoeléctrico (Serrano, 2011).

En base a los resultados presentados en la tabla 8, se obtuvo la ecuación $y = -0.6784x + 12.58$, en donde el eje de abscisas (Y) es el pH al cuál se desea llegar y el eje de ordenas (X) el número de lavados en batch de diez minutos. Esta ecuación nos permite calcular la cantidad de lavados para llevar el pH de la piel a tratar a lo neutro. Es muy importante mencionar que esta ecuación sólo funcionaría con el tipo de macerado realizado, debido a que es la solución de hidróxido de potasio la que indica los niveles de pH iniciales presentes en la piel.

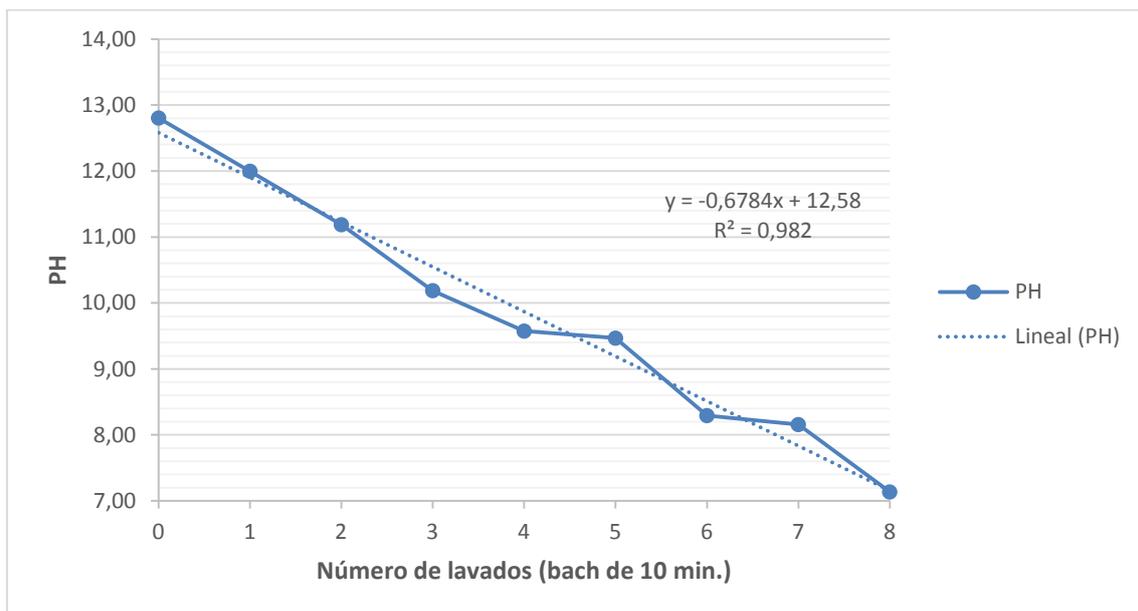


Figura 14. Curva de neutralización pH vs. Tiempo

Esta ecuación podría permitirnos también extraer la piel en un pH básico, recordando que la solubilidad del colágeno también aumenta cuando el pH es alejado de lo neutro, según lo comentado por Serrano (2011). De esta forma a cierto número de lavados encontraríamos el pH deseado.

Se concluye de este experimento que el número óptimo de lavados para neutralizar la piel macerada de paiche fue 8 con un tiempo de 10 minutos cada uno.

4.4 Tercer experimento: Determinación de tiempo y temperatura de extracción de colágeno de listones de piel de paiche

Con los mejores resultados de los ensayos anteriores (macerado con solución de hidróxido de potasio de 1N y con once lavados para neutralizar) se realizó el estudio de tiempo y temperatura de extracción de colágeno en función de la fuerza de gel. La figura 15 muestra las pieles maceradas y neutralizadas listas para extraer el colágeno presente en ellas.



Figura 15. Pieles de paiche a punto de iniciar la etapa de extracción

En la figura 16 se muestra el colágeno en solución después del tratamiento de temperatura realizado para la extracción.



Figura 16. Colágeno en solución

Para la extracción se utilizó una proporción piel: agua constante de 1:5 (%p/v). La tabla 9 muestra los resultados de esta etapa experimental.

Tabla 9. Determinación de la de la fuerza gel.

Tiempo (h)	Fuerza de gel (g/cm ²)		
	Temp. 50 °C	Temp. 60 °C	Temp. 70 °C
0,5	-	0	712,1
1	-	240,1	759,63
1,5	-	306,9	821,23
2	-	344,1	874,5
2,5	-	374,93	906,53
3	-	391,5	962,6

El colágeno obtenido de los listones de paiche, obtenidos a temperaturas de (50, 60 y 70 °C) fueron concentrados mediante un proceso de secado con aire forzado a una temperatura de 30 °C. Para realizar las mediciones de fuerza de gel fue necesario reconstituir el colágeno seco en láminas en un proceso de rehidratación; se procedió teniendo en consideración lo propuesto por Montero y Gómez-Guillén (2000), con las restricciones del laboratorio. Se disolvió el colágeno seco en láminas a una temperatura de 60 °C en una relación 6.67% (p/v) y fue llevado a la temperatura de refrigeración

hasta formar gelatina. Luego de ello se midió la fuerza gel con el gelómetro acondicionado a las condiciones del laboratorio, propuesto por Gordillo (1972).

En la figura 17 se muestra la variación de la fuerza gel, indirectamente medida por la cantidad de colágeno extraído con relación al tiempo de extracción, se observó que el incremento de esta fuerza es directamente proporcional a la temperatura de extracción y al tiempo. Según Wang *et al.* (2008), altas temperaturas pueden facilitar la conversión de colágeno en gel y así poder aumentar el rendimiento; sin embargo, temperaturas altas pueden cambiar la conformación del colágeno, lo que puede causar que la solubilidad sea menor. Con lo mencionado se puede inferir que al seguir aumentando la temperatura quizás el rendimiento a extraer sea mayor, no obstante la calidad del colágeno puede disminuir, por esta razón se probaron las temperaturas mencionadas-

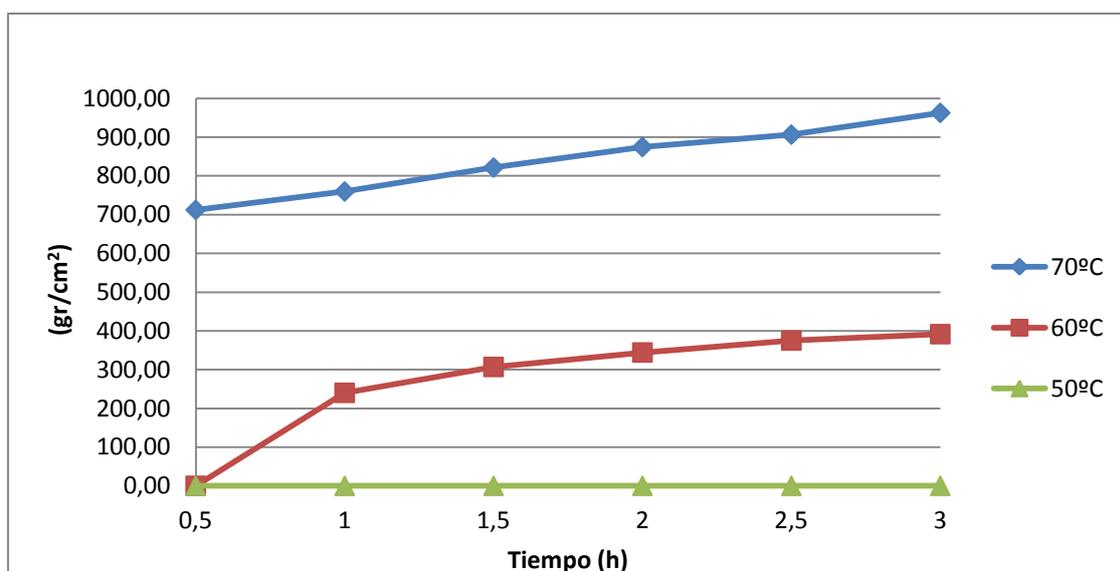


Figura 17. Fuerza gel en la etapa de extracción

De acuerdo a los resultados obtenidos de la fuerza de gel de la piel de paiche a la temperatura de extracción de 50 °C, se determinó que no hubo formación de gel, esto se puede atribuir a que el colágeno seco a esta temperatura no llegó a disgregarse y por lo tanto no formar gel (Wang *et al.*, 2008). Por otro lado el tratamiento realizado a 60 °C presentó valores de fuerza de gel de 391,50 gr/cm² en un tiempo de 3 horas de extracción. Con respecto al tratamiento de extracción realizado a 70 °C los resultados determinaron que la fuerza de gel obtenida en 3 horas de extracción fue superior a lo obtenido en los tratamientos anteriores con un valor de 962,60 gr./ cm². Bailach *et al.*

(2012), mencionan que la fuerza de las gelatinas más débiles es de aproximadamente 30 gr/cm² (procedentes de los huesos de animales) y el de las más fuertes es de 500 gr./cm² (colas de las pieles de animales-colas más fuertes según los autores) por lo que permite concluir que la piel de paiche posee una fuerza de gel superior a otras materias primas. Según de Paz (2006), la calidad del colágeno va a depender en cierta medida de la cantidad de prolina e hidroxiprolina presente en el colágeno, ello es medido indirectamente por los grados bloom del colágeno, por lo que se puede concluir que el colágeno obtenido a partir de piel de paiche corresponde un gel fuerte.

Los resultados en esta etapa experimental fueron analizados estadísticamente con el Diseño de Bloques Completamente al Azar para determinar la significancia y el test de Tukey para encontrar el mejor tratamiento, de acuerdo a esto se pudo determinar que sí existen diferencias significativas ($p < 0.05$). Se encontró que el mejor tratamiento al realizar las pruebas comparativas fue la temperatura de 70 °C y un tiempo de 3 horas (anexos 2 y 3).

4.5 Caracterización del producto final

Se obtuvo un producto de coloración transparente, sin presencia de elementos extraños (figura 18), con respecto a la coloración del colágeno seco en láminas, Schmitz *et al.* (2013) citados por Custodio (2014), afirman que la coloración de la gelatina no influye en sus propiedades funcionales, no obstante la claridad es una propiedad deseable ya que muchas veces va a depender para su aplicación.

En relación al olor encontrado en el colágeno, este va a depender de la materia prima tratada previamente, es decir de la piel; en ese sentido, es muy importante mencionar que el paiche es un pez de agua dulce, por lo tanto no posee bases volátiles nitrogenadas que generen un mal olor durante o después del procesamiento de la misma, así que al terminar el proceso de extracción el olor fue lo más cercano neutral.



Figura 18. Colágeno seco en láminas

4.5.1 Análisis físico-químicos

Los resultados obtenidos de los análisis físico-químicos realizado al colágeno seco en láminas se presentan en la en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados de ensayos físico-químicos del colágeno extraído.

ENSAYO	RESULTADO
Proteína (g/100 g de muestra original) (Factor 6,25)	90 %
Grasa (g/100 g de muestra original)	0 %
Cenizas (g/100g de muestra original)	0 %
Humedad (g/100g de muestra original)	10 %

Shyni et al. (2013) obtuvo composiciones de proteína por encima del 88% en pieles de atún (*Katsuwonus pelamis*), tiburón perro (*Scoliodon sorrakowah*) y rohu (*Labeo rohita*), y los contenidos de humedad variaron entre 8.45% y 11.14%. Romero (2016) obtiene un porcentaje de proteína alrededor de 88% y 6.8% de humedad; según Muyonga *et al.* citado por Romero (2016), menciona que las gelatinas deben estar casi nulas de grasa (menores a 0.5%). Comparando los resultados obtenidos en la piel de

paiche, principalmente proteína, éstos se encuentran dentro de lo esperado y las cantidades de cero por ciento aproximadas (grasa y cenizas) son debido a que fueron cantidades traza.

4.5.2 Análisis microbiológico

El colágeno extraído, seco en láminas, fue convertido en gel para poder analizarlo microbiológicamente. Los resultados se presentan en la tabla 11.

Tabla 11. Resultados microbiológicos del colágeno extraído convertido a gelatina.

ENSAYOS	RESULTADO	NORMA SANITARIA N° 071-MINSA/DIGESA V.01 /LÍMITES MICROBIANOS
N de Coliformes (NMP/g)	<3	10 ²
N de Staphylococcus aureus (UFC/g)	<10 ² Estimado	10 ²
N de Mohos y Levaduras (UFC/g)	<10 Estimado	10 ²

Los valores reportados en la tabla 11 demuestran que el colágeno fue obtenido de manera adecuada siguiendo los procedimientos de buenas prácticas de manufactura logrando así un producto adecuado desde el punto de vista microbiológico. Se puede decir también que se encuentra por debajo de los límites recomendados por el MINSA (Ministerio de Salud del Perú) y DIGESA (Dirección General de Salud Ambiental) lo que confirma la forma aséptica, ya que al trabajar con piel de pescado que es rica en proteínas el desarrollo de microorganismos es muy factible.

4.5.3 Rendimiento

Con respecto al rendimiento del colágeno seco en láminas éste fue de 7,11 % partiendo desde piel limpia con escamas. Comparado con el rendimiento de otras especies de

peces se encuentra en el rango, además es necesario mencionar que las dimensiones de las escamas son aproximadamente 2 mm de espesor, 1 cm de ancho y 1,5 cm de largo. En otros trabajos de investigación, como en la extracción del colágeno del tollo (*Mustelus mento*), según Miano *et al.* (2014) el rendimiento se encuentra en el rango de 16,7% y 29,8%; no obstante, las escamas de este pez no se comparan a la del paiche. Según Giménez *et al.* y Alemán *et al.*, citados por Mosquera (2014), el rendimiento de la gelatina extraída de la túnica del calamar gigante se encuentra en 12% y según Jeya Shakila *et al.* (2012) citado por Mosquera (2014), los rendimientos de los geles de los pieles de pescado se encuentran entre 4 y 16%.

Tabla 12. Rendimiento del colágeno extraído

Etapa	% Rendimiento
Peso de piel con escamas	211,43 gr.
Peso de piel después del macerado	254,93 gr.
Peso del residuo después de extracción	11,6 gr.
Peso del colágeno seco	15,03 gr.
Rendimiento (%)	7,11%

V. CONCLUSIONES

1. Los resultados han demostrado que fue factible extraer colágeno de la piel de paiche (*Arapaima gigas*).
2. Los niveles adecuados de hidróxido de potasio, tiempo de macerado y fuerza gel en las diferentes etapas de extracción del colágeno fueron: para la etapa de macerado Hidróxido de Potasio (KOH) de 1N con un tiempo de 12 horas en una relación de piel: solución de 1:5. En la etapa de neutralización se bajó el pH hasta 7.14 con 8 lavados en tiempos de diez minutos cada uno. En la etapa de extracción se estableció que la mejor temperatura a extraer es a 70 °C por un lapso de tres horas en una relación de piel: agua de 1:5.
3. La fuerza gel en el producto final fue de 962.6 gr/cm².
4. La composición química proximal del colágeno obtenido fue 90% de proteína y 10% de humedad.
5. El rendimiento del colágeno deshidratado fue de 7,11% desde piel limpia con escamas.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio de optimización del proceso de extracción de colágeno de piel de paiche.
2. Determinar el tipo de colágeno extraído a través de electroforesis SDS-PAGE.
3. Realizar un análisis cuantitativo de prolina e hidroxiprolina para determinar la calidad del colágeno extraído.

VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Alcántara, F; Wust, W; Tello, S; Rebaza, M; Castillo, D Del. 2006. El gigante del Amazonas. Instituto de la Amazonía Peruana. (En línea). Consultado el 29 de agosto del 2013. Disponible en <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L031.pdf>
2. Avdalov, N. s.f. Manipulación de pescado en las comunidades indígenas. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://www.infopesca.org/sites/default/files/complemento/publilibreacceso/1399//La%20pesca%20indigena.pdf>
3. Bailach, C; Fuster, L; Yusa, D; Talens, P; Vicente-Palomino, S. 2012. Gelatinas y colas para el uso de tratamientos en restauración. Estado de la cuestión. (En línea). Consultado el 5 de junio del 2016. Disponible en http://www.irp.webs.upv.es/documents/arche_article_173.pdf
4. Bonilla, R; Quintero, M; Gómez, E; Rodríguez, D; Hurtado, H. 2008. Histología y morfometría de piel del pez *Eremophilus mutisii* (*Trychomecteridae, Siluriformes*). (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v56n2/art36v56n2.pdf>
5. Cali, J. 2012. Obtención de cuero de tilapia con la utilización de diferentes tipos de curtientes. Tesis de ingeniero en industrias agropecuarias. Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2012.
6. Campos, L. 2001. Historia Biológica del Paiche o Pirarucu (*Arapaima gigas Cuvier*) y Bases para su Cultivo en la Amazonía Iquitos-Perú. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://www.iiap.org.pe/upload/Publicacion/ArapaimaGigasHist.pdf>

7. Carbajal-Vallejos, P. s.f. La introducción de arapaima gigas (paiche) en la amazonia boliviana. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://www.faanagua.org/biblioteca/3Cap15.pdf>
8. Chu-koo, F; Fernández, C; Rebaza, C; Darias, M; García, C; García, A; Tello, S; Campos, L; Alvan, M; Ayarza, J; Arévalo, L; François, J; Arbildo, H. 2017. El cultivo del paiche, Biología, Procesos Productivos, Tecnologías y Estadísticas. (En línea). Consultado el 01 de octubre del 2017. http://repositorio.iiap.org.pe/bitstream/IIAP/267/1/Chu_Libro_2017.pdf
9. Custodio, M. 2014. Extracción y caracterización de la gelatina extraída a partir de subproductos de tilapia. (En línea). Consultado el 25 de agosto del 2016. Disponible en http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2248/1/CM_COEAL_2013_2_08.pdf
10. De la Torre, G. 2013. Obtención de colágeno y su efecto como capa protectora edible utilizando nisina como preservante en productos cárnicos y quesos. Tesis de Ingeniero químico. Ecuador. Universidad de Guayaquil. 2013.
11. Ennas, N; Huamami, R.; Gooma, A; Bédard, F; Biron, É; Subirade, M; Beaulieu, L; Fliss, I. 2016. Collagencin, an antibacterial peptide from fish collagen: Activity, structure and interaction dynamics with membrane. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Pág. 1-6.
12. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 1998. El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad. Composición Química. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. (En línea). Consultado el 17 de febrero del 2017. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s00.htm>
13. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2002. Los fertilizantes y su uso. Asociación internacional de la

- industria de los fertilizantes. (En línea). Consultado el 10 de febrero del 2017. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-x4781s.pdf>
14. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2014. Manual básico sobre procesamiento e inocuidad de productos de la acuicultura. (En línea). Consultado el 17 de julio del 2017. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-i3835s.pdf>
 15. Ferreira, T; Barreto, A. 2012. Colágeno: Características químicas e propiedades funcionais. (En línea). Consultado el 22 de julio del 2017. Disponible en <http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz/article/view/5336>
 16. Gestión. 2013. El paiche: Rey de la Amazonía que está conquistando los mercados internacionales. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://gestion.pe/empresas/paiche-rey-amazonia-que-esta-conquistando-mercados-internacionales-2074190>
 17. Ghiggo, N; Martínez, C; Pinedo, T; Vásquez, E. 2007. Plan de negocios para la producción y exportación de filete congelado de paiche al mercado suizo. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://cendoc.esan.edu.pe/fulltext/tesis/MA2007/matp3720078.pdf>
 18. Gil, F.; Ayala, M.; López, O. s.f. Morfología típica de un pez eleósteo. Anatomía Veterinaria. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. (En línea). Consultado el 15 de febrero del 2017. Disponible en <http://www.um.es/anatvet/Documentos/Curso-Peces/pdfs/Morfologia%20externa%20tipica%20pez%20teleosteo.pdf>
 19. Gómez - Guillén, M; Giménez, B; López-Caballero, M; Montero, M. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *FoodHydrocolloids*, 25(8), 1813-1827.
 20. Gómez - Lizárraga, K; Piña-Barba, C; Rodríguez-Fuentes, N. 2011. Obtención y caracterización de colágena tipo I a partir de tendón bovino. (En línea).

Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/sv/v24n4/v24n4a6.pdf>

21. Gordillo, F. 1974. Estudio comparativo de diferentes métodos de extracción de Agar utilizando el alga marina (*Gracilaria lemaneiformis*). Tesis Ing. Pesq. Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 1974.
22. Guillermo, C; Ramagnano, F. 2014. Negocios Agroindustriales: Cuero de pescado y la comercialización de sus productos. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/acuicultura/difusion/_archivos//000000_Documentos%20de%20Competitividad%20sectorial/160705_Negocios%20Agroindustriales%20Cuero%20de%20Pescado%20y%20la%20Comercializaci%20n%20de%20sus%20productos.pdf
23. ITP (Instituto Tecnológico de la Producción). 2014. Memoria Anula 2014. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://www.itp.gob.pe/archivos/transparencia/POI/2014/MEMORIAANUAL2014.pdf>
24. ITP (Instituto tecnológico de la producción). s.f. CITECCAL Lima y Amazon Harvest de Loreto desarrollan productos con cuero de paiche. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <https://www.itp.gob.pe/publicaciones/item/396-citeccal-lima-y-amazon-harvest-de-loreto-desarrollan-productos-con-cuero-de-paiche>
25. ITP (Instituto tecnológico pesquero del Perú). 2002. Aplicaciones tecnológicas para el procesamiento del paiche en la amazonia peruana. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <https://es.scribd.com/document/16516294/BIO4-2-C-Aplicaciones-Tecnologicas-Procesamiento-Paiche-ITP>
26. Martínez, E. 2011. Colágeno de pescado, fórmula para la juventud. (En línea). Consultado el 20 de junio del 2016. Disponible en

<http://www.unperiodico.unal.edu.co/dper/article/colageno-de-pescado-formula-para-la-juventud.html>

27. Martínez, M. 1958. Enciclopedias General del Mar. Garriga. Barcelona - Madrid. Pág. 290-291.
28. Matmaroh, K; Benjakul, S; Prodpran, T; Encarnacion, A; Kishimura, H. (2011). Characteristics of acid soluble collagen and pepsin soluble collagen from scale of spotted golden goatfish (*Parupeneus heptacanthus*). Foodchemistry. 129. 1179-1186.
29. Matute, J; del Águila, R; Braga, G; Panduro, A; Mass, W; Martín, M. 2009. Amazonía guía ilustrada de flora y fauna. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://cdam.minam.gob.pe/novedades/amazoniaflorayfauna.pdf>
30. Miano, A; Rojas, C; Barraza, G. 2014. Influencia de la temperatura y el tiempo de extracción en la fuerza gel y el rendimiento de la gelatina obtenida a partir de la piel de tollo (*Mustelus* sp.). Scientia Agropecuaria.
31. MINAGRI (Ministerio de Agricultura y riego). 2016. Paichecultura es una oportunidad de desarrollo para la Selva peruana. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <https://www.sierraexportadora.gob.pe/2016/06/11/paichecultura-es-una-oportunidad-de-desarrollo-para-la-selva-peruana/>
32. MINSA/DIGESA (Ministerio de Salud del Perú/ Dirección General de Salud Ambiental). 2003. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. (En línea). Consultado el 21 de julio del 2016. Disponible en http://www.digesa.sld.pe/norma_consulta/RM%20615-2003MINSAs.pdf

33. Montero, P; Gómez-Guillén, MC. 2000. Extracting conditions for megrim (*Lepidorhombus boscii*) skin collagen affect affect functional properties of the resulting gelatin. *Journal of Food Science* 65 (3): 434-438.
34. Mosquera, M. 2014. Nanoencapsulación de hidrolizados peptídicos con actividades biológicas procedentes de subproductos de la pesca. Tesis Mg. Sc. Madrid. Universidad Complutense de Madrid. 326 pp. (En línea). Consultado el 15 de agosto del 2015. Disponible en <http://eprints.ucm.es/25118/1/T35312.pdf>
35. Panchana, C. 2013. Estudio de factibilidad de una planta de curtido de piel de pescado para elaboración de cuero en la parroquia de Santa Rosa. Tesis Ingeniería en desarrollo empresarial. Ecuador. Universidad Estatal Península de Santa Elena. 2013.
36. Paz, P de. 2006. Estimulación de la síntesis de colágeno en cultivos celulares. Posible tratamiento de enfermedades degenerativas mediante la dieta. Tesis Doctoral. Granada. Universidad de Granada. 378 pp.
37. Portal de Acuicultura. 2009. Una empresa de moda trabajará exclusivamente con la piel del paiche para producir zapatos y bolsos. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://www.mispecies.com/nav/actualidad/noticias/noticia-detalle/Una-empresa-de-moda-trabajar-exclusivamente-con-la-piel-del-paiche-para-producir-zapatos-y-bolsos/#.WYfHhYiGPIU>
38. Proaño, F; Stuart, J.R; Chongo, B; Flores, L; Herrera, M; Medina, Y; Sarduy, L. Evaluación de tres métodos de saponificación en dos tipos de grasas como protección ante la degradación ruminal bovina. (En línea). Consultado el 30 de setiembre del 2017. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/1930/193036208006.pdf>
39. Prockop, D; Guzmán, N. 1981. El colágeno. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en

- <http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/fundamentos/articulos/Art%C3%ADculos/CL002.pdf>
40. PRODUCE (Ministerio de la Producción). 2011. Panorama de la acuicultura mundial, América Latina y en el Caribe y en el Perú. (En línea). Consultado el 21 de marzo del 2016. <http://economics.embassyofperu.nl/images/economics/docs/informe-sobre-la-acuicultura-en-el-peru.pdf>
 41. PRODUCE (Ministerio de la Producción). 2015. Anuario estadístico pesquero y acuícola. (En línea). Consultado el 01 de marzo del 2017. Disponible en: <http://www.produce.gob.pe/documentos/estadisticas/anuarios/anuario-estadistico-pesca-2015.pdf>
 42. Ramírez-Guerra, H; Ramírez-Suarez, J; Mazorra-Manzano, M. 2013. Propiedades biológicas de péptidos derivados del colágeno de organismos marinos. (En línea). Consultado el 20 de febrero del 2017. Disponible en <http://www.biocetnia.uson.mx/revistas/articulos/24-Articulo%206.pdf>
 43. Rebaza, M; Alcántara, F; Valdivieso, M. 1999. Manual de piscicultura del Paiche (*Arapaima gigas Cuvier*). (En línea). Revisado el 1 de setiembre del 2013. Disponible en <http://www.iiap.org.pe/promamazonia/SBiocomercio/Upload/Lineas/Documentos/356.pdf>
 44. Romero, R. 2016. Obtención de gelatina de piel de perico (*coryphaena hippurus*) y caracterización de sus propiedades fisicoquímicas. Tesis de Ingeniero Pesquero. Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2016.
 45. SANIPES (Organismo Nacional de Sanidad Pesquera). 2016. Sanipes negociará ingreso de paiche peruano a mercado China. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. <http://www.sanipes.gob.pe/web/index.php/es/prensa/noticias/385-sanipes-negociara-ingreso-de-paiche-peruano-a-mercado-chino>

46. Serrano, E; Leguía, G; Quispe, M; Casas, G. 2013. Valores hematológicos del paiche (*Arapaima gigas*) de la amazonia peruana. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371838875016>
47. Serrano, J. 2011. Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis*) y cachama (*Piaractusbrachipomus*). Tesis Mg. Sc. Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 2011. 85 pp.
48. Shyni, K; Hema, GS; Ninan, G; Mathew, S; Joshy, CG; Lakshmanan, PT. 2014. Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). Food Hydrocolloids 39: 68-76.
49. Sierra, E; Espinosa, A; Real, F; Herráez, P; Castro, P; Fernandez, A. 2011. Histología y patología de peces. Parte I: Biología y necropsia de los peces. (En línea). Consultado el 07 de mayo del 2016. Disponible en http://acceda.ulpgc.es/bitstream/10553/8144/1/0280574_00001_0007.pdf
50. Sousa, R de. 2010. Obtención de gelatina utilizando cabezas de carpa común (*Cyprinus carpio*): Evaluación de las etapas de pre-tratamiento y extracción. 2010. Tesis de Maestría. Brasil. (En línea). Consultado el 22 de julio del 2016. Disponible en <http://www.ppgalimentos.furg.br/images/stories/Dissertacoes/2010/dissertao%20final%20-%20roberto.pdf>
51. Thuy, L; Okasaki, E; Osako, K. 2013. Isolation and characterization of acid-soluble collagen from the scales of marine fishes from Japan and Vietnam. Food Chemistry. 149.
52. Torres-Arreola, W; Pacheco-Aguilar, R; Sotelo-Mundo, R; Rouzaud-Sández, O; Ezquerro-Brauer, J. 2008. Caracterización parcial del colágeno extraído a partir del manto, aleta y tentáculos de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). (En línea).

Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/11358120809487634>

53. Tratado de cooperación amazónica. s.f. Piscicultura amazónica con especies nativas. (En línea). Consultado el 30 de julio del 2017. Disponible en https://guzlop-editoras.com/web_des/agri01/amazonica%20paiche/pld1832.pdf
54. Vela, E. 2013. Memoria descriptiva “Química de Alimentos de Pescado”. Tesis de Ingeniería en industrias alimentarias. Perú. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.
55. Wang, L; Yang, B; Du, X; Yang, Y; Liu, J. 2008. Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodonidella*) by response surface methodology. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 9.
56. Woo, J; Yu, S.; Cho, S; Lee, Y; Kim, S. 2007. Extraction optimization and properties of collagen from yellowfin tuna (*Thunnusalbacares*) dorsal skin. ScienceDirect. FoodHydrocolloids.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Tabla de límites microbianos según Resolución Ministerial

Agente microbiano	Categoría	Clase	N	C	L por g	
					M	M
Coliformes	5	3	5	2	10	10 ²
Staphylococcus aureus	8	3	5	1	10	10 ²
Mohos	3	3	5	1	10	10 ²

Fuente: MINSA/DIGESA (2003)

Anexo 2: Cálculo general del análisis de varianza (ANOVA) para determinar el coeficiente de variabilidad y el valor F en la etapa experimental de extracción.

Fuente	GL	SC	MC	Valor F	Valor P	
Tratamientos	2	2196550	1098275	184,52	0,000	**
Bloques	5	90468	18094	3,04	0,063	
Error	10	59521	5952			
Total	17	2346539				

** Alta significancia

Anexo 3: Comparación de medias utilizando el Test de Tukey durante la etapa experimental de extracción

Factor	N	Media	Agrupación	
70	6	839,5	A	*
60	6	276,3	B	*
50	6	0	C	*

*significancia