



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA
EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**



Extracción de gelatina mediante ácido acético utilizando como materia prima desechos de curtiembres.

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación previo a la obtención de título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Por: Liliana Mishell Casa Quinapallo

Tutor: MSc. Daniel Alfonso Cabrera Valle

Ambato – Ecuador

Enero 2021

APROBACIÓN DEL TUTOR

MSc. Daniel Alfonso Cabrera Valle

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de éste Trabajo de Titulación bajo la Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que corresponde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 11 de enero del 2021

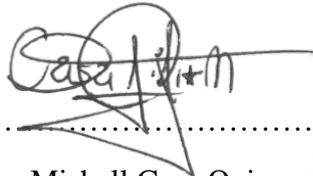
.....
MSc. Daniel Alfonso Cabrera Valle

C.I.1802561595

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Liliana Mishell Casa Quinapallo manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



.....
Liliana Mishell Casa Quinapallo

C.I. 050355436-2

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

.....
Presidente del Tribunal

.....
Dr. José Homero Vargas López

C.I.: 1801978048

.....
Dr. Orestes Darío López Hernández

C.I.: 1754784864

Ambato, 11/ 01/2021

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

.....

Liliana Mishell Casa Quinapallo

C.I. 050355436-2

AUTORA

DEDICATORIA

A mis padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. Ha sido un orgullo y privilegio ser su hija, son los mejores padres.

A mis hermanas (Seydi y Gatita) por estar siempre presentes acompañándome y motivándome moralmente en todo este transcurso de mi etapa como estudiante, al aconsejarme en todo momento y siendo mis cómplices de vida.

Liz mi mejor amiga de carrera universitaria gracias a su amistad desconsidera y el apoyo que me ha brindado en esta travesía.

Especialmente a Alexis que, aunque no sabe qué hacer cuando me rompo, se quedó a mi lado y en sus ojos pude evidenciar el deseo de salvarme y eso es más que suficiente.

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme salud y la capacidad para seguir adelante en diferentes etapas de mi vida, por darme la oportunidad de hacer las cosas hoy mejor que ayer.

A mis padres y hermanos/as por su apoyo incondicional cuando mis ánimos decaían, por darme palabras de aliento y un abrazo reconfortante para renovar energías, de verdad los aprecio.

A mi tutor ING. DANIEL CABRERA, persona de gran sabiduría quien se ha esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro, debido a su apoyo y comprensión me guio a través de cada una de las etapas de este proyecto para alcanzar los resultados que buscaba.

También quiero agradecer a mis nobles docentes de mi querida FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA, por brindarme todos los recursos y herramientas que fueron necesarios para llevar a cabo el proceso de investigación. Sencillo no ha sido el proceso, pero gracias a las ganas de trasmitirme sus conocimientos y dedicación que los ha regido, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo de mi tesis y obtener una afable titulación, no hubiese podido arribar a estos resultados de no haber sido por su incondicional ayuda.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1.1. Antecedentes investigativos.....	1
Epidermis	2
Dermis o corium.....	2
Tejido subcutáneo o endodermis.....	3
1.2. Objetivos	9
1.2.1. General	9
1.2.2. Específicos	9
1.3. Hipótesis.....	9
1.3.1. Hipótesis Nula.....	9
1.3.2. Hipótesis Alternativa.....	9
1.4. Señalamiento de variables	10
1.4.1. Variable Independiente	10
1.4.2. Variable Dependiente.....	10
2.1. Materia Prima	11
2.2. Caracterización de materia prima.....	11
2.2.1. Determinación de humedad.....	11
2.2.2. Determinación de proteína	12
2.3. Extracción de la gelatina	13

2.3.1. Recepción de pieles.....	13
2.3.2. Pelambre.....	13
2.3.3. Cortado.....	14
2.3.4. Recolección de muestras	14
2.3.5. Lavado.....	14
2.3.6. Neutralización	14
2.3.7. Cortado.....	14
2.3.8. Extracción.....	14
2.3.9. Neutralización	15
2.3.10 Secado	15
2.4. Diseño Estadístico	16
2.5. Análisis Estadístico	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
3.1. Análisis Físico-Químico.....	18
3.2 Extracción de Gelatina	19
3.3 Verificación de la Hipótesis	22
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	24
4.1 Conclusiones	24
4.2 Recomendaciones.....	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
Anexo 1. Desechos de una curtiduría en Ambato	31
Anexo 2. Fotografía de muestras.....	32
Anexo 3. Fotografía de muestra lavadas y cortadas de a 1-2cm ²	32
Anexo 4. Muestras sumergidas en ácido acético.....	33
Anexo 5. Muestras sumergidas en ácido acético después de 24h.	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de aminoácido presentes en el colágeno.	6
Tabla 2. Factores y niveles del diseño experimental.	16
Tabla 3. Valores de pH según el tipo de concentración de ácido acético y tipo de rechazo.	16
Tabla 4. Combinaciones y número de tratamientos aplicados.	17
Tabla 5. Resultados de humedad y proteína de desechos.	18
Tabla 6. Cantidad de gelatina y pH respecto a la concentración de ácido acético.	19
Tabla 7. Tabla ANOVA.	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Denominaciones de las distintas partes del cuero.	1
Figura 2. Identificación de partes con las que se trabajó.	2
Figura 3. Estructura del colágeno.	5
Figura 4. Composición de vertebras de bovinos.	8
Figura 5. Composición de glándulas mamarias de bovinos.	8
Figura 6. Metodología de Extracción.	15
Figura 7. Variación de pH y peso en muestras después de la extracción de gelatina a diferentes concentraciones de ácido.	20
Figura 8. Gráfica de intersección.	22

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Porcentaje de materia seca.	11
Ecuación 2. Porcentaje de humedad.	11
Ecuación 3. Porcentaje Kjeldahl nitrógeno.	12
Ecuación 4. Porcentaje de proteína cruda.	12

RESUMEN

El trabajo de investigación es presentado como una alternativa para extraer gelatina utilizando como base desechos provenientes de curtidurías, empresas dedicadas a la transformación de piel a cuero. Los desechos generados (colas, retal y carnaza) en estas industrias representan grandes cantidades, llegando a tener valores de colas 28 800 unidades al mes, carnaza 150 720 kg al mes y retal 8 321 kg al mes. En la actualidad estos desechos son llevados al relleno sanitario mediante un gestor ambiental. Se utilizaron técnicas experimentales útiles para la obtención de un mayor rendimiento, y un menor impacto ambiental.

Se realizó el análisis de proteína para cada muestra, obteniendo un 30,4 % en colas, el 22,6 % en retal y carnaza con 9,42 %; valores elevados debido a la composición propia de los residuos. Se observó el comportamiento de estos subproductos con diferentes concentraciones de ácido acético (0,5-1 mol por litro), por un período de 24 horas. Se presentan 18 tratamientos, siendo el T16 (Concentración de ácido 1 mol por litro) el mejor para colas, para el retal con el T12 (Concentración de ácido 0,8 mol por litro) y carnaza T8 (Concentración de ácido 0,7 mol por litro). Después de la segunda neutralización, los valores de pH para estas concentraciones se encuentran en el rango de la metodología seguida, además, se requiere de mayor concentración de ácido para las colas debido a la presencia de diferentes tipos de colágenos en la muestra.

Palabras Clave: Gelatina, colágeno, colas, residuos sólidos, subproductos bovinos, carnaza.

ABSTRACT

The research work is presented as an alternative to extract gelatin using as a base waste from tanneries, companies dedicated to the transformation of leather to leather. The waste generated (glues, scraps and meat) in these industries represents large quantities, reaching values of glues 28,800 units to the month, meat 150 720 kg to the month and scrap 8,321 kg to the month. Currently, these wastes are taken to the sanitary landfill through an environmental manager. Useful experimental techniques were used to obtain a higher yield and a lower environmental impact.

The protein analysis was carried out for each sample, obtaining 30.4% the percentage in tails, the 22.6% the percentage in remnant and bait with 9.42% the percentage; high values due to the composition of the waste itself. The behavior of these by-products was observed with different concentrations of acetic acid (0.5-1 mole per liter), for a period of 24 hours. 18 treatments are presented, the most optimal for tails T16 (1 mole per liter acid concentration), T12 remnant (0.8 mole per liter acid concentration) and T8 bait (0.7 mole per liter acid concentration), at these concentrations the pH values after the second neutralization are in the range of the control taken, a higher acid concentration is required for the tails due to the presence of different types of collagens in the sample.

Keywords: Gelatin, collagen, solid waste, bovine by-products, bait.

CAPITULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Curtido

El curtido es el proceso de transformación de piel a cuero, se requiere una serie de pasos: recepción, remojo, descarnado, pelambre, dividido, desencale, piquelado, curtido, escurrido. Es necesario considerar que en las diferentes etapas se tienen desechos. En la etapa del dividido se estima 374,8 kg de generación de residuos por cada 1.000 kg de piel procesada (Monroy Ávila, Peña Monroy, & Garzón Cortes, 2019). En esta etapa la epidermis es cortada posteriormente trabajada en cuero; la capa intermedia, los recortes de piel, son idóneos para la producción de gelatina, aquí se tienen desechos como: sebo, carnaza, colas y retal.

Para identificar las partes del cuero (Figura 1), se debe tener presente las siguientes definiciones.

Flor: Superficie del cuero que corresponde al lado del pelo una vez que esta ha sido eliminada.

Carnaza: Superficie del cuero opuesto a la flor.

Retal: Es considerado como los cortes sobrantes de la piel una vez curtida, recortes de la piel (ubres y cuello).

Colas: La piel bovina viene con la cola la cual no es utilizada en el proceso de curtiduría.

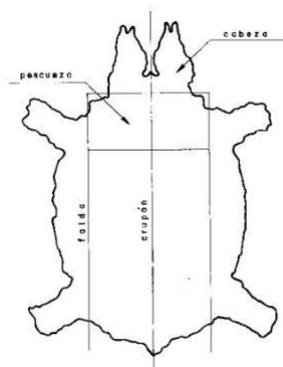


Figura 1. Denominaciones de las distintas partes del cuero.

Fuente: NTE INEN 936, (1984).

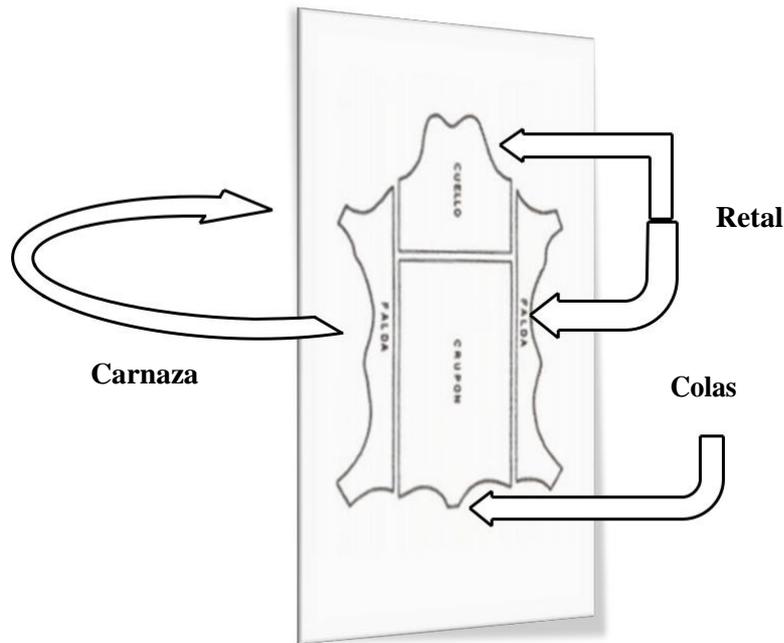


Figura 2. Identificación de partes con las que se trabajó.

La constitución histológica de la piel se determina mediante exámenes microscópicos de cortes transversales (Adzet, J. 2005). En la piel fresca se pueden distinguir tres partes superpuestas que son: epidermis, dermis y tejido subcutáneo.

Epidermis

Es la parte del pelo, siendo la parte más superficial o externa de la piel y su función es de revestimiento, esta es eliminada en la operación de pelambre (Pilco, 2007).

Dermis o corium

Es la parte que se transforma en cuero, está ubicada por debajo de la epidermis y está separada de ella por la membrana hialina (contiene el típico poro o grano, dependiendo del animal). En posteriores etapas del curtido se denomina a esta sección como flor, contiene 2 regiones una capa capilar y reticular.

La capa capilar

Posee fibras elásticas, vasos sanguíneos, terminaciones nerviosas y fibras de colágeno.

Una capa reticular

Contienen células conjuntivas y fibras de colágeno oblicuas y más gruesas que las de la capa anterior.

Tejido subcutáneo o endodermis

Es un tejido conjuntivo que contiene grandes lóbulos de tejido graso limitados por tabiques de fibras colágenas delgadas y escasas fibras elásticas, a esta sección se la denomina carnaza.

1.1.2. Gelatina

La gelatina se extrae del tejido conectivo de pieles procedentes de bovinos cerdos, pescado y huesos de animales. Con el paso del tiempo algunos autores plantean la posibilidad de producir gelatina recombinante a partir de microorganismos genéticamente modificados para eliminar las variables asociadas al uso de material de tejidos (**Serna, Pineda, & Ayala, 2007**).

La gelatina es un derivado del colágeno que se obtiene a partir de hidrólisis térmica parcial controlada, bajo condiciones específicas de temperatura solvente y pH, al ser una proteína fibrosa desnaturalizada es un biopolímero funcional, que posee amplia aplicación en las industrias de alimentos, farmacia y fotografía (**Ahmad & Benjakul, 2011**).

Se extrae en su mayor parte de pieles de vacuno y porcino, las propiedades reológicas dependen de la materia prima, de su pretratamiento (alcalino o ácido), del método de extracción, de la concentración de la solución y del método de secado (**Serna, Velásquez, & Ayala, 2010**).

De acuerdo con **Morrera (2007)**, la piel de bovinos cuenta con un 33% de proteína y que de esta el 95% se trata de colágeno, se encuentran en menor cantidad también proteínas como: elastina, la queratina, las albúminas y las globulinas.

1.1.2.1 Procesos de extracción de gelatina

Existen dos procesos de producción de gelatina: el ácido y el básico. El primero somete a huesos y piel en una solución ácida diluida por un período predeterminado; se lava con agua fría y se genera un producto con un punto isoeléctrico de 6-9. En el proceso alcalino los huesos deben ser desmineralizados por lo que se suspenden en una solución de sosa por un período de 60 días, en tanto las pieles se remojan por

períodos menores, posteriormente se realiza un lavado exhaustivo obteniendo un punto isoeléctrico del producto entre 4.8 y 5.2 (**Badui Dergal, 2006**).

La gelatina que proviene del colágeno por su desnaturalización limitada posee un biopolímero de alto peso molecular, obteniendo varias propiedades funcionales: capacidad de formación de película, la capacidad de retención de agua, la formación de espuma y las propiedades emulsionantes, calificándolo como un componente importante en alimentos, medicina, farmacia, fotografía y cosméticos (**Ahmada, y otros, 2018**)

1.1.3. Proteínas

Las proteínas son cadenas de aminoácidos (polímeros) que desempeñan un papel fundamental en los seres vivos, al ser biomoléculas, están formadas por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno (**Prockop y Guzmán, 1981**).

De acuerdo a su conformación, existen proteínas globulares y fibrosas, el colágeno es un ejemplo de este último tipo, es una fibra abundante en la mayoría de organismos vivos, se caracteriza por su alta resistencia y por soportar cargas de entre 10 y 40 Kg, (**Eluk, 2006**).

1.1.3.1. Colágeno

El colágeno posee una fibra denominada monómero de colágeno, que es una molécula de tropocolágeno tiene forma de varilla de 300 nm de longitud y 1.5 nm de diámetro. Esta molécula tiene en su estructura tres hélices polipeptídicas levógiras (denominadas cadenas α), al unirse estas cadenas forman una superhélice dextrógira (Figura 3). Las hélices polipeptídicas y superhélice se encargan de evitar el desenrollamiento de las tres cadenas polipeptídicas (**Lugo, 2006**).

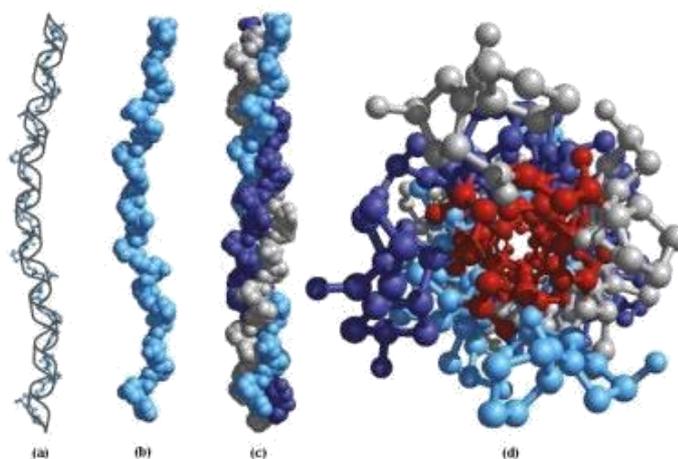


Figura 3. Estructura del colágeno.

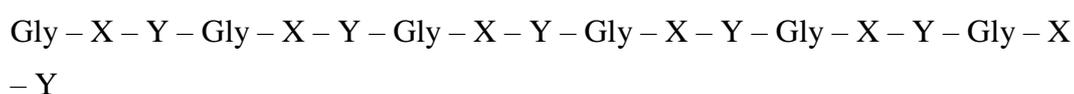
Fuente: (Lugo, 2006).

En la Figura 3, la hélice del colágeno posee una estructura secundaria especial que sólo se encuentra en esta proteína. **(a)** La secuencia repetitiva del tripéptido Gly-X-Y adopta una estructura helicoidal levógira con tres residuos por vuelta. **(b)** Modelo de esferas de la hélice de colágeno mostradas en a. **(c)** Tres de estas hélices se enrollan entre ellas de forma dextrógira. **(d)** Superhélice de tres cadenas del colágeno vista desde un extremo, en una representación de bolas y varillas **(Lugo, 2006)**.

Es necesario entender la estructura de la molécula del colágeno para poder entender la estructura química de la gelatina, el colágeno es una proteína compuesta de aminoácidos naturales enlazados entre sí siguiendo una secuencia específica **(Lugo, 2006)**.

Los aminoácidos al ser sustancias anfóteras soportan una particular forma de condensación que se denomina enlace peptídico. Este tipo de enlace se ve fuertemente afectado por ácidos o bases, siendo así muy sensible al pH de las sustancias con las que esté en contacto **(Bailach et al, 2012)**.

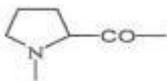
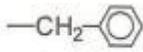
Según **Tambir (2018)** la molécula del colágeno cuenta con el siguiente esquema:

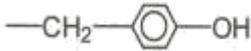
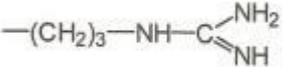
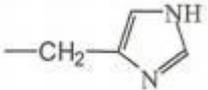


En las posiciones X e Y se suele encontrar prolina e hidroxiprolina, contiene tres cadenas de proteína distintas, estas a su vez poseen una molécula del aminoácido glicina cada tres posiciones, representando así el 33% de sus aminoácidos, en menor cantidad está la prolina con un 13% (**Lugo, 2016**).

El colágeno está constituido por unos 20 aminoácidos, dependiendo del tipo de animal y de su juventud, con cadenas laterales no polares, polares, ácidas y básicas, como se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1. Tipos de aminoácido presentes en el colágeno.

GRUPO FUNCIONAL	AMINOÁCIDO
No Polares	
-H	Glicina
-CH₃	Alanina
-CH(CH₃)₂	Valina
-CH₂CH(CH₃)₂	Leucina
-CH(CH₃)₂	Isoleucina
	Prolina
	Fenilalanina
-(CH₂)SH₃	Metionina
Polares	
-C₂OH	Serina
-CH(OH)CH₃	Treonina

	Tirosina
Grupo ácidos	
-CH₂COOH	Ácido Aspártico
-(CH₂)₂COOH	Ácido Glutámico
Básicos	
	Arginina
	Histidina
-(CH₂)₂CH(OH)CH₂NH₂	Hidroxilisina

Fuente: Hidalgo, (2013),

El tratamiento ácido elimina el material no colagenoso de la materia prima, se aprecia el hinchamiento de las partículas fibrosas de colágeno a causa de esto debilita las uniones de las cadenas proteicas por hidrólisis topoquímica, efectuándose la ruptura final de uniones covalentes presentes en los monómeros de colágeno, conservando un elevado peso molecular (Serna, Pineda, & Ayala, 2007).

1.1.3.2. Estructura de piel bovina

Colas: El colágeno al ser una proteína estructural ayuda a formar huesos y tendones (López, 2014). En la Figura 4 se aprecia los huesos formados con ayuda del colágeno denominadas vertebrae caudales o coccígeas, estas se localizan al final de la columna vertebral correspondiente a la cola de los animales vertebrados, en las mismas se cuenta con la presencia de articulaciones cartilagosas.

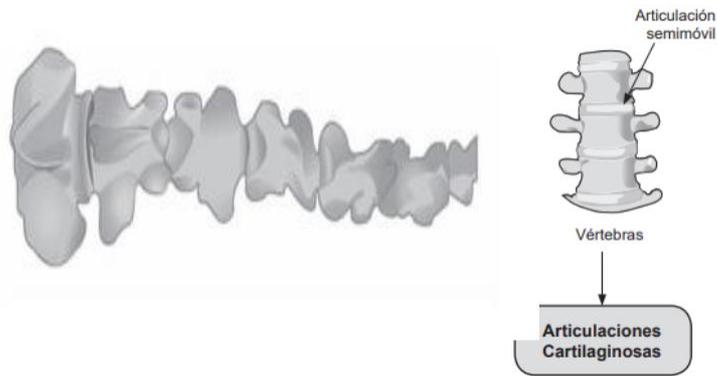


Figura 4. Composición de vértebras coccígeas de bovinos.

Fuente: (INT, 2016).

Existen diversos tipos de colágeno estos dependerán de la parte en donde se hallen, entre estos se tiene el de tipo I presente en hueso, los de tipo II presente en cartílagos y los de tipo III presente en piel (**Bernales, 2004**).

Según **León (2009)** en las vértebras coccígeas de bovinos se localiza al colágeno tipo I mientras que, en las articulaciones cartilagosas se halla colágeno tipo II, por lo tanto, estos valores se sumarían a las fibras de colágeno del corium y tejido subcutáneo.

Retal: Siendo los sobrantes de la piel una vez curtida, aquí se hallan recortes como: cuello y ubres, El retal compone pedazos de cortes, en su mayoría está compuesto por glándulas exocrinas, en la Figura 5 se contemplan los tejidos que conforman esta sección de manera coronal, por lo que la estructura química del mismo resulta más compleja.

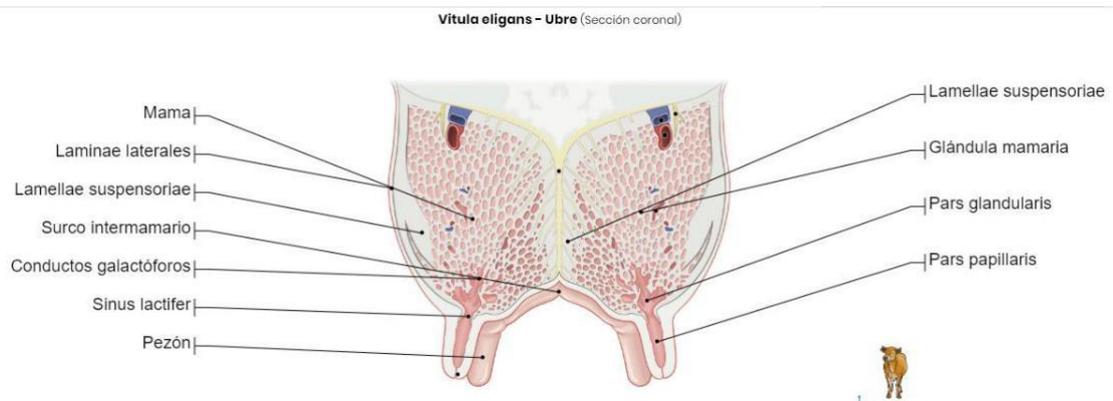


Figura 5. Composición de glándulas mamarias de bovinos.

Fuente: Micheau, Hoa & Borofka, (2020).

Carnaza: Corresponde a la cara interna de la piel que estuvo en contacto con el músculo y grasa animal.

1.1.4. Humedad

El contenido de humedad es, generalmente, un índice de estabilidad del producto. El agua libre es la forma predominante, la cual se libera con facilidad por los diversos métodos de secado, mientras que el agua ligada, está precisamente combinada a alguna estructura química de las proteínas, mismas que poseen también una capacidad de retención de agua, esta se ve afectada por factores como el pH, fuerza iónica, tipos de sales y temperatura (**Fennema, 2000**).

1.2. Objetivos

1.2.1. General

- Evaluar la extracción de gelatina utilizando como materia prima desechos de curtiembres con el uso de ácido acético

1.2.2. Específicos

- Caracterizar la materia prima mediante análisis fisicoquímicos.
- Identificar el mejor método de extracción mediante ácido.

1.3. Hipótesis

1.3.1. Hipótesis Nula

H₀: La concentración de ácido acético (0,5-1 mol/l) y el tipo de residuo (carnaza, retal y colas) no influyen en los valores de pH.

1.3.2. Hipótesis Alternativa

H₁: H₀: La concentración de ácido acético (0,5-1 mol/l) y el tipo de residuo (carnaza, retal y colas) influyen en los valores de pH.

1.4. Señalamiento de variables

1.4.1. Variable Independiente

- Gelatina a partir de carnaza
- Gelatina a partir de colas
- Gelatina a partir de retal
- Concentración de ácido acético

1.4.2. Variable Dependiente

- pH

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materia Prima

La materia prima es proveniente de la provincia de Tungurahua de una las curtiembres existentes en el Parque Industrial, se utilizaron los desechos que genera dicha empresa: carnaza, colas y retal de origen bovino. Posterior al lavado de la Flor (en base a la formulación establecida por la empresa), se utilizaron los residuos para el análisis proximal.

2.2. Caracterización de materia prima

2.2.1. Determinación de humedad

La humedad se determinó de acuerdo con la norma (NTE INEN 565, 1983). Se pesaron 3 g de muestra molida en una cápsula vacía y tarada, se introdujo en una estufa secándola a una temperatura de $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, hasta obtener un peso constante. Finalmente, se enfrió en un desecador y se pesó. Todos los ensayos se realizaron por duplicado. El contenido de materia seca se obtuvo utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\%Materia\ Seca = \frac{m_3 - m_2}{m_2 - m_1}$$

Ecuación 1.

Dónde:

m_1 = peso de la cápsula (g)

m_2 = peso de la muestra + cápsula (g)

m_3 = peso de la muestra seca + cápsula (g)

$$\%Humedad = 100 - \%Materia\ Seca$$

Ecuación 2.

2.2.2. Determinación de proteína

La cantidad de proteína se determinó basándose en la norma **AOAC (2016)** para carne y productos cárnicos. Para esto se pesaron 3 g de las muestras y se añadieron dos pastillas Kjeldahl y 20 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄). La muestra preparada se llevó a ebullición por el lapso de una hora, hasta que ocurra un cambio de coloración que va desde rojo opaco a verde.

Después la muestra se enfrió y se añadieron 70 mL de agua destilada, luego de enfriar se añadieron 50mL de hidróxido de sodio (NaOH) 40% (p/v), esta solución se introdujo en un destilador de proteína Vapodest Gerhardt (TT625, España) conjuntamente con 30 mL de ácido bórico (H₃BO₃) 1N contenido en un matraz para ser filtrado, este filtrado se tituló con ácido clorhídrico (HCl) 0.1 mol/L hasta llegar a un color rosa ligero. El contenido de proteína se calculó con la siguiente ecuación:

$$Kjeldahl \text{ nitrógeno } \% = \frac{(VS * VB) * M * 14.01}{W10} \quad \text{Ecuación 3.}$$

$$\%Proteína \text{ cruda} = \%Kjeldahl * F \quad \text{Ecuación 4.}$$

Donde:

Vs = Volumen (ml) de ácido estandarizado para valorar una prueba.

VB = Volumen (mL) de ácido estandarizado usado para valorar el blanco del reactivo.

M = Molaridad de HCl estándar.

14.01 = Peso atómico del nitrógeno N.

W = Peso (g) del estándar de prueba.

10 = Factor para convertir mg/g en porcentaje.

2.3. Extracción de la gelatina

En primera instancia, las pieles que se receiptan en todas las curtiembres deben cumplir con la norma (**NTE INEN 1809,1991**), en la cual se establecen los requisitos que deben efectuarse en las pieles bovinas frescas o saladas del sacrificio normal, emergente o del rescate de reses muertas fortuitamente y pertenecientes a las especies bovina entre otras.

Posteriormente se someten las pieles crudas con agua para limpiarlas, acto seguido se realiza el apelmbrado o depilación, se elimina el pelo mediante un proceso químico como lo señala la **NTE INEN 1870 (1994)**, es necesario considerar las formulaciones que se utilizan en el lavado para eliminar todo tipo de piel y folículos especialmente de las colas.

A continuación, se detalla la secuencia de pasos que se efectuaron para la extracción de gelatina, de manera conjunta con los parámetros que se deben tomar en cuenta en cada etapa. En la figura 3 se encuentra una secuencia de los pasos.

2.3.1. Recepción de pieles

La piel animal llega a la curtiembre, en donde se procede a salar con el propósito de alcanzar una humedad de 60-65% de agua, este proceso protege la estructura de la piel y evita los ataques bacterianos (**Serna, Pineda, & Ayala, 2007**).

2.3.2. Pelambre

Es el proceso que tiene por objetivo la remoción del pelo, se lo realiza por vía enzimática o química. La primera es un depilado por putrefacción aplicando cantidades dosificadas de enzimas derivadas de bacterias o proteasas de hongo, mientras que, por vía química se utiliza sulfuro de sodio, sulfhidrato de sodio, entre otros, en esta la temperatura no debe sobre pasar los 30 °C (**Serna, Pineda, & Ayala, 2007**).

El pelambre se efectuó vía química utilizando hidróxido de calcio, sulfuro sódico, sulfhidrato de sodio, aminos e hidróxido de sodio, los químicos a utilizar son pesados según lo indica la formulación con la que se trabaje, de esta manera provoca el aflojamiento de la estructura fibrosa de la piel (**Ortiz & Lumbí, 2016**).

2.3.3. Cortado

Posteriormente las pieles que salieron del proceso de pelambre pasan por la máquina de descarnar con el fin de eliminar carnosidades y grasas, también realizan manualmente los cortes de partes correspondientes al cuello, la cola y las extremidades, aquí se separan la carnaza, retal, colas y sebo.

2.3.4. Recolección de muestras

Una vez separados en contenedores los desechos, se procede a recolectar el material con el que se va a trabajar es carnaza, retal y colas.

2.3.5. Lavado

Las muestras son lavadas con agua destilada para eliminar cualquier tipo de residuos físicos (tierra y residuos de pelo). El lavado se lo realiza mínimo por 30 minutos.

2.3.6. Neutralización

Por los productos utilizados en la etapa de pelambre las pieles tienden a un pH básico, con ayuda de agua corriente se debe hasta alcanzar un pH de 6-7.

2.3.7. Cortado

La materia prima se cortó en trozos pequeños aproximadamente de 1 a 2 cm², esto ayuda a tener mayor área superficial en contacto con el reactivo que se utilizará posteriormente.

2.3.8. Extracción

Para extraer gelatina se utilizó el método tipo A (ácido) en el cual las piezas de cada muestra delimitadas se sumergen en una concentración de ácido acético (0.5-1 mol/l), con un lapso de 24 horas. Esta vía elimina el material no colagenoso de la materia prima (carnaza, retal y colas), en el cual se puede apreciar el hinchamiento de las partículas fibrosas de colágeno efectuándose la ruptura final de uniones covalentes presentes en los monómeros de colágeno, manteniendo la proteína un elevado peso molecular (Serna, Pineda, & Ayala, 2007).

2.3.9. Neutralización

Se realiza la segunda neutralización con agua destilada a cada muestra, hasta conseguir un pH en el rango de 5-6 (Serna, Pineda, & Ayala, 2007).

2.3.10 Secado

Se llevaron a secar las muestras en una estufa, el proceso se realizó en tres etapas con temperaturas diferentes (70, 75 y 80 ° C) durante 5 h cada uno (Dwi, Suharjono, Yuny & Yudi, 2016).

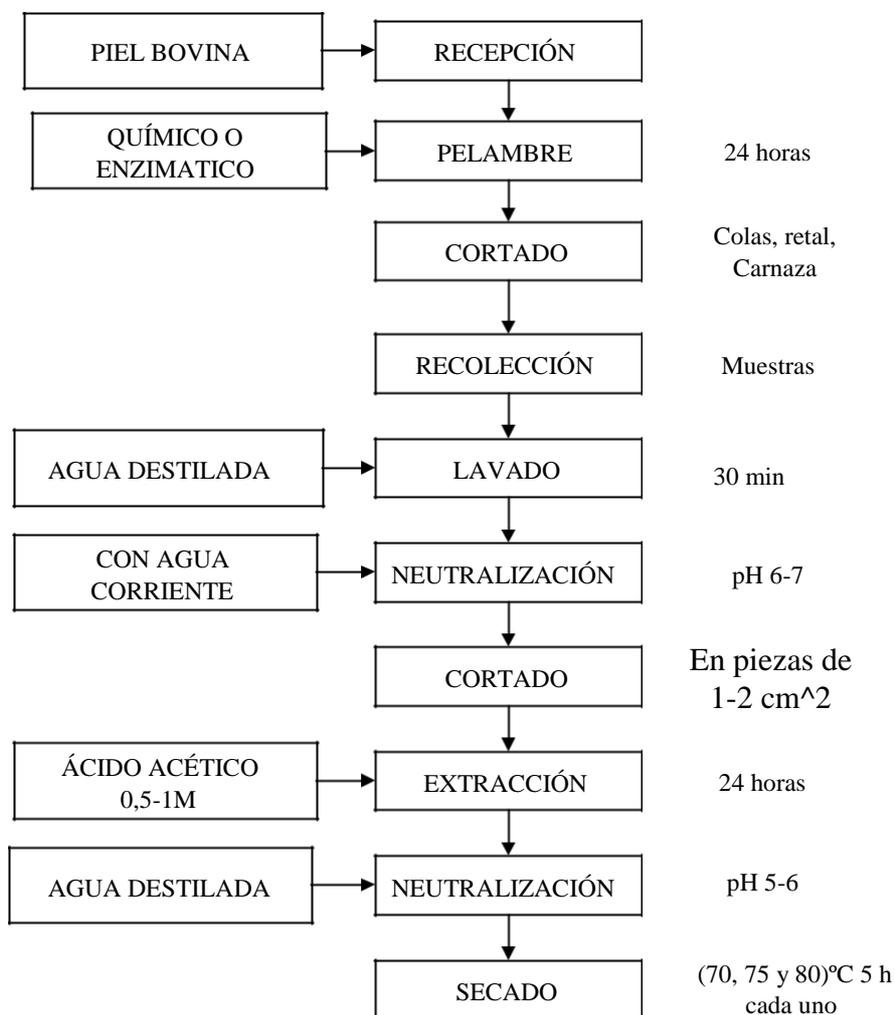


Figura 6. Metodología de Extracción.

Fuente: (Serna, Pineda, & Ayala, 2007)

2.4. Diseño Estadístico

El presente trabajo está compuesto de una sección experimental, en la cual se utilizó un diseño de dos factores, evaluando los diferentes desechos y concentración de ácido acético, con dos réplicas con el fin de extraer una interpretación eficaz de los resultados obtenidos con los factores de estudio.

Tabla 2. Factores y niveles del diseño experimental.

Factores	Niveles
a = concentración de ácido acético	a0 = 0,5 mol/l
	a1 = 0,6 mol/l
	a2 = 0,7 mol/l
	a3 = 0,8 mol/l
	a4 = 0,9 mol/l
b = tipo de rechazo	a5 = 1 mol/l
	b0 = colas
	b1 = carnaza
	b2 = retal

Elaborado por: Liliana Casa

Tabla 3. Valores de pH según el tipo de concentración de ácido acético y tipo de rechazo.

Concentración (mol/l)	Tipo de rechazo						
	Colas (b0)		Carnaza (b1)		Retal (b2)		
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	
a0	0,5	7,6	7,7	6,9	6,8	7	7
a1	0,6	7,5	7,2	6,6	6,8	6,9	6,6
a2	0,7	7,4	7,5	5,5	5,3	6,4	6,6
a3	0,8	7,2	7,1	5	5,2	6	6,2
a4	0,9	6,3	6,3	3,4	3,7	4,6	4,5
a5	1	6	6	3,9	3,5	4,4	4,5

Elaborado por: Liliana Casa

Tabla 4. Combinaciones y número de tratamientos aplicados.

Combinaciones	Tratamiento	R1	R2
a0b0	T1	7,6	7,7
a0b1	T2	6,9	6,8
a0b2	T3	7	7
a1b0	T4	7,5	7,2
a1b1	T5	6,6	6,8
a1b2	T6	6,9	6,6
a2b0	T7	7,4	7,5
a2b1	T8	5,5	5,3
a2b2	T9	6,4	6,6
a3b0	T10	7,2	7,1
a3b1	T11	5	5,2
a3b2	T12	6	6,2
a4b0	T13	6,3	6,3
a4b1	T14	3,4	3,7
a4b2	T15	4,6	4,5
a5b0	T16	6	6
a5b1	T17	3,9	3,5
a5b2	T18	4,4	4,5

Elaborado por: Liliana Casa

2.5. Análisis Estadístico

Los datos obtenidos se indican con la media \pm desviación estándar y análisis de varianza (ANOVA) de factores de acuerdo con los experimentos. Cuando se detectaron diferencias significativas en los resultados, se realizó un análisis de comparación múltiple mediante la prueba de Tuckey. Las diferencias se consideraron significativas al 95% de confianza. Para el análisis estadístico se empleó el programa EXCEL e IMB SPSS Statistics 21.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis Físico-Químico

Los desechos con los que se realizó el análisis físico-químico, tanto porcentaje de humedad como proteína, fueron de muestras recolectadas después del pelambre. Una vez que se dividieron las partes correspondientes, estas fueron analizadas en el laboratorio arrojando un valor de humedad de 56,8% como lo señala la Tabla 5 para las tres muestras. Este valor se encuentra dentro del rango de 50 a 65% (**Hidalgo, 2013**).

Tabla 5. Humedad y proteína de desechos.

Desecho	% Humedad	% Proteína
Carnaza	56,8	9,42
Colas	56,8	30,4
Retal	56,8	22,6

Elaborado por: Liliana Casa

En la Tabla 5 se evidencia la cantidad de proteína para cada muestra que tiene relación con lo que indica **Morrera (2007)** que la piel de bovinos contiene hasta 33% de proteína. Existe proteína en mayor cantidad en la muestra de colas seguido de retal y carnaza. Esto se debe que la estructura química de cada uno de los desechos.

También se puede apreciar que el contenido inferior en proteína es de carnaza 9.42% debido a que solo contiene la parte de endodermis que posee fibras de colágeno delgadas, en comparación con el retal y las colas, ya que estas cuentan con las capas de dermis y endodermis, como resultado se encontró mayor cantidad de proteínas colágenas. El retal está compuesto por glándulas exocrinas provocando así una estructura química más compleja a comparación con la carnaza.

Las colas tienen un valor de 30.4% poseen mayor cantidad de colágeno debido a la presencia de huesos y tendones, los mismos que son formados por esta proteína estructural como lo señala **López, 2014**. En la Figura 4 se aprecia vertebras caudales

o coccígeas, en donde hay presencia de articulaciones cartilagosas, por ende, existe diferentes tipos de colágeno en este tipo de desecho, en huesos tipo I, tipo II presente en cartílagos y los de tipo III presente en piel como lo mencionan **Bernales, 2004** en conjunto con **León (2009)**. En el anexo 2 se puede presenciar el grosor de cada desecho.

3.2 Extracción de Gelatina

Según **Hidalgo, (2013)** cuando se extrae gelatina la materia prima debe pasar por el proceso de pelambre. Este proceso es esencial y puede ser de tipo químico (utilizando sulfuro de sodio) o de tipo enzimático (mediante proteasas). En esta etapa se eliminan la epidermis y el pelo.

Tabla 6. Cantidad de gelatina y pH respecto a la concentración de ácido acético.

Concentración CH ₃ COOH (mol/l)	Colas		Carnaza		Retal	
	Peso (g)	pH	Peso (g)	pH	Peso (g)	pH
----	100,789	7,9	100,9765	7,8	100,2945	7,4
0,5	105,122	7,65	108,282	6,85	106,382	7
0,6	109,134	7,35	112,4563	6,7	107,322	6,75
0,7	108,123	7,45	120,343	5,4	110,522	6,5
0,8	109,604	7,15	122,429	5,1	111,529	6,1
0,9	110,311	6,3	115,633	3,55	110,464	4,55
1	115,249	6	105,532	3,7	109,524	4,45

Elaborado por: Liliana Casa

La Tabla 6 exhibe los valores de masa y pH después de la extracción con ácido acético durante 24 horas y la neutralización con agua destilada hasta alcanzar un pH de 5-6 como se establece en la metodología. La Figura 7 muestra el requerimiento de altas concentraciones de ácido acético para que se logre penetrar en las colas; esto debido a la presencia de tejidos más gruesos y vertebras coccígeas que contiene material rico en colágeno. A bajas concentraciones de ácido no se logra que el colágeno se hinche.

Para las muestras de carnaza, por su composición simple, a concentraciones bajas de ácido se logra penetrar con facilidad en los espacios intermoleculares. En el caso del retal, debido a su composición un poco más compleja, se requiere de concentraciones intermedias.

Es vital mencionar que, para todas las muestras, al alcanzar un nivel del pH de 5-6, se llega a su máximo en peso. Esto se debe a que el ácido ha provocado el hinchamiento de la proteína de colágeno y la absorción del ácido acético es mayor, como se indica en la Figura 7. En el Anexo 5, a simple vista se puede ver el aumento de peso e hinchamiento del colágeno de cada una de las muestras.

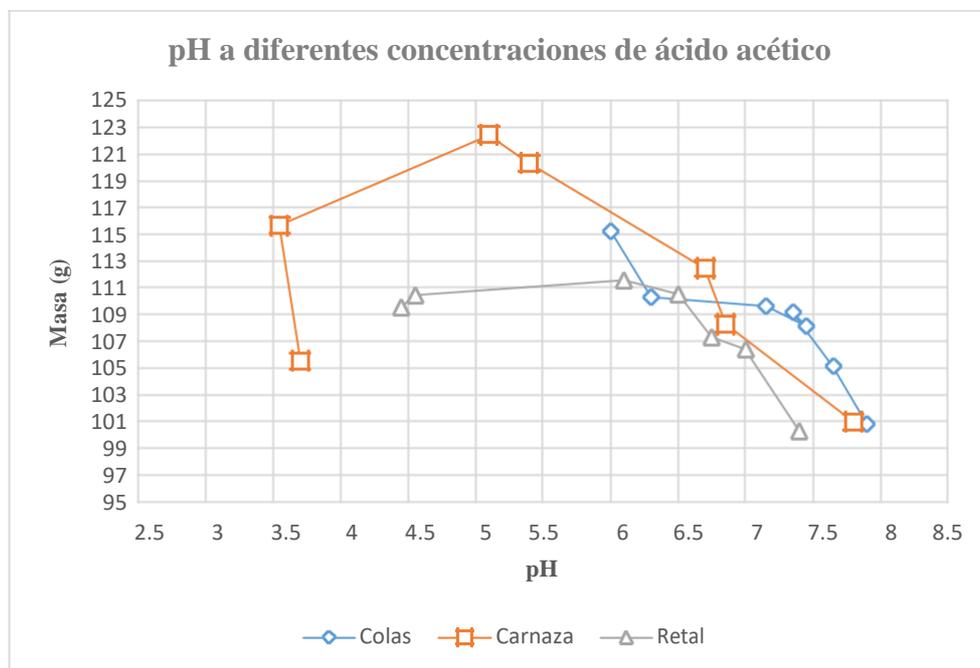


Figura 7. Variación de pH y peso en muestras después de la extracción de gelatina a diferentes concentraciones de ácido acético.

Elaborado por: Liliana Casa

Los desechos con los que se trabajó contienen colágeno que posteriormente se hidrolizó para producir gelatina (**Hastutiningrum, 2009**).

El uso de ácido acético provoca que el colágeno se dividida en péptidos más pequeños. El producto obtenido vía ácida es mejor que con vía básica, esto se debe a que los ácidos ingresan fácilmente a la estructura de triple hélice de las fibras de colágeno; además, el tiempo empleado es más corto y su costo es menor (**Hasdar, 2011**).

Ihsanur (2010) también comenta que se obtienen resultados en menor tiempo produciendo una gelatina con una fuerza de gel más alta, mayor viscosidad y color más claro.

En la Figura 8 se puede apreciar una intersección entre los desechos, carnaza y retal, también se divisa que a mayor concentración de ácido en las muestras el pH disminuye, siendo una relación inversamente proporcional. Para las muestras de colas, es indispensable que se logre alcanzar el rango de pH (5-6) variando la concentración del ácido acético (**Dwi et al, 2016**).

No es recomendable trabajar con concentraciones altas del ácido. Si bien se puede aumentar la cantidad de gelatina obtenida debido al aumento de hidrólisis de colágeno, esto no garantiza un producto de buena calidad. Si se realizase el proceso antes descrito, los enlaces químicos dentro de las moléculas de colágeno son perjudicados, minimizando la calidad de la gelatina resultante (**Wang et al., 2008**). En las muestras de retal y carnaza no es aconsejable utilizar concentraciones elevadas de ácido acético, porque en concentraciones de 0,5 a 0,7 mol/l se alcanza el parámetro de pH, por lo que se generaría una demanda innecesaria de reactivo.

Hasta la actualidad son escasas las investigaciones realizadas para obtención de gelatina vía ácida, así como también su comportamiento físico químico y aminoácidos presentes con uso de ácido acético en piel de bovinos. Sin embargo, existen estudios que utilizando este reactivo obtuvieron resultados buenos en cuanto a viscosidad, Bloom y claridad en otros tipos de materias primas como por ejemplo: en piel de cerdo (**Sompie et al., 2015**), cabra (**Said, 2011**), pescado (**Binsi et al., 2009**) y muslos de pollo (**Ulfah, 2011**).

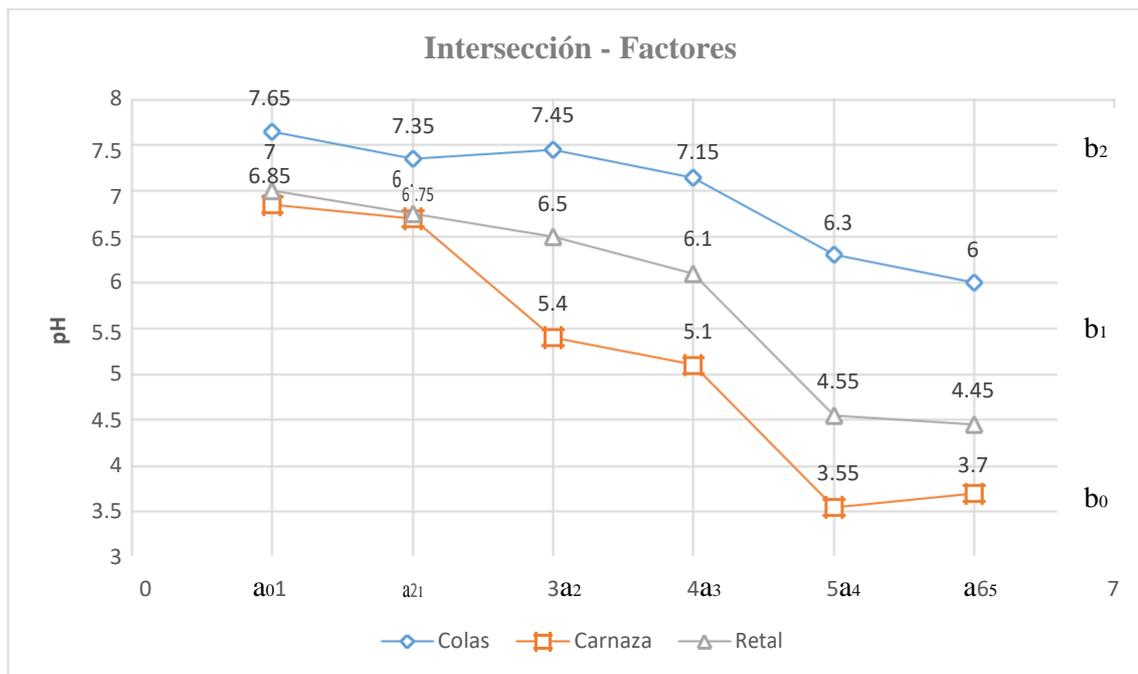


Figura 8. Gráfica de intersección.

Elaborado por: Liliana Casa

3.3 Verificación de la Hipótesis

Tabla 7. Tabla ANOVA.

FV	GL	SC	CM	RV	F tabla
R	1	0,00027778	0,00027778	0,01450443	4,451
A	5	33,1780556	6,63561111	346,48477	2,81
B	2	19,0738889	9,53694444	497,980661	3,592
AB	10	3,83944444	0,38394444	20,0480258	2,45
E	18	0,34472222	0,01915123		
T	35	56,4363889			

Elaborado por: Liliana Casa

En la Tabla 7, mediante el análisis estadístico ANOVA de cada ensayo realizado con un nivel de confianza del 95%, se rechaza la hipótesis nula ya que existen diferencias significativas en cada una de las concentraciones de ácido acético utilizadas. Estas a

su vez dependerán del material de desecho con el que se trabaje, concluyendo que después de haber realizado todos los análisis respectivos, el mejor tratamiento para las colas es T16, para el retal es T12 y para la carnaza es T8.

Se acepta la hipótesis alternativa, debido a que los experimentos realizados con las combinaciones de concentración de ácido acético y tipos de residuos influyen significativamente en los valores de pH obtenidos.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se caracterizó la materia prima para obtener el porcentaje de humedad y proteína. El valor promedio obtenido para el primer caso fue de 56,8% para los tres tipos de desechos que se efectuó la investigación, mientras que la proteína obtenida fue de 30,4% para colas, retal 22,6% y carnaza 9,42%.
- El 90% de los valores obtenidos de proteína representan al colágeno, con mayor incidencia en las muestras de colas. Esto, debido a la elevada cantidad de proteína de tipo estructural, a los tejidos y a los huesos que conforman este desecho. El segundo valor más alto se obtuvo del retal, que cuenta con fibras más gruesas de colágeno.
- Los mejores métodos de extracción con ácido acético según el tipo de rechazo y la concentración del reactivo fueron: El T16 (Concentración de ácido 1 mol/l) para las colas, el T12 (Concentración de ácido 0,8 mol/l) en cuanto al retal y el T8 (Concentración de ácido 0,7mol/l) al trabajar con carnaza.
- Se requiere de mayor concentración de ácido acético para las colas debido a la presencia de diferentes tipos de colágenos en la muestra. La metodología utilizada es efectiva cuando se trata desechos bovinos con ácido acético.

4.2 Recomendaciones

- Tomar como base la presente investigación utilizando las concentraciones de ácido acético para cada desecho en la obtención de gelatina.
- Las colas deben ser sometidas a extracción de colágeno por contener el mayor porcentaje de proteína debido a su composición. Se recomienda ampliar el estudio específicamente en este tipo de residuo.
- Sería idóneo realizar la identificación de proteínas que contienen este tipo de desechos (ya sea por electroforesis o cromatografía) para sacar el mayor provecho del contenido estructural de las muestras
- Para el secado de gelatina sería idóneo realizarlo por el método de secado atómico, de esta manera se contaría con resultados en menor tiempo en comparación con el secado convencional que demanda muchas horas e incluso días (optimización de tiempo).
- Es vital realizar investigaciones en desechos que se tienen de las empresas, así desarrollar un procedimiento con los puntos críticos de control, sacando provecho de los residuos obteniendo una nueva fuente de ingreso y cuidando al medio ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADZET, J., Química Técnica de Tenerife., 1a ed., Igualada, España., Edit. Romanya-Valls., 2005., Pp. 25-53.
- Ahmad, M., & Benjakul, S. (2011). Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraicction time. *Food Hydrocolloids*, 25(2), 381-388.
- AOAC.(2016). Determinación de Nitrógeno por el Método Kjeldahl.from https://www.itwreagents.com/uploads/20180122/A173_ES.pdf
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos*. México: Pearson Educación.
- Bailach, C., Fuster, L., Yusá, D., Talens, P. & Vicente, S. (2012). GELATINAS Y COLAS PARA EL USO EN TRATAMIENTOS DE RESTAURACIÓN. ESTADO DE LA CUESTIÓN. Arché. Publicación del instituto universitario de restauración del patrimonio de la upv 6(7) págs7-22. From https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/33041/2012_6-7_1722.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Bernales, Diego M, Caride, Facundo, Lewis, Adrián, & Martin, Lagens. (2004). Polymerized collagen membranes: considerations on their use in guided tissue and osseous regeneration techniques. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 23(2), 65-74. Recuperado en 13 de agosto de 2020, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002004000200001&lng=es&tlng=en.
- Binsi, P., Shamasundar, B., Dileep, F. & Howell, N. (2009). Rheological ad functional propoities of gelatin from the kin of bigeye snapper (*Priachanthus hamrur*) fish influence of gelain on the gel forming ability og fish mince. *Food Hidrocollod*, 23:132-145
- Dwi Wulandari, Triatmojo, Suharjono, Erwanto Yuny & Pranato Yudi. (2016). Phisicochemical Properties and Amino Acid and Functional Group Profiles of gelatine Extracted from Bovine Split. *Journal of Nutrition* 15(7) págs. 655-661

- Eluk, D. (2006). *Modelado Reocinético de la Maduración de Soluciones de Gelatina en Flujo de Corte*. Obtenido de <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/bitstream/handle/11185/508/tesis.pdf>
- Fennema, O. (2000). *Química de los Alimentos*. España: Acribia S.A.
- Hasdar, T. & Rusly, S. (2011). The influence of edible films produced from combination chicken leg skin gelatin and soy protein. Tesis. Faculty of animal Science, University of Gadjah MAda, Yogyakarta.
- Hastutiningrum, S. (2009). Industrial waste utilization split leather tennery for glue with collagen hydrolysis. Departament of Environmental Engineering, Faculty of Applied Science Institute of Science and Technology AKPRIND, Yogyakarta. J. Technol., 2: 208-212
- Hidalgo, L. (2013). DISEÑO DE LA ETAPA DE CURTICIÓN DE PIEL BOVINA CON LA UTILIZACIÓN DEL EXTRACTO TÁNICO Y GÁLICO DEL GUARANGO CAESALPINIASPINOSA”. Tesis previo a la obtencio de ingeniero químico. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Riobamba. From <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3113/1/96T00232.pdf>
- Ihsanur, M. (2011). Fesasibility study on the establishment of industrial gelatin from bovine lime split hide in engineering, training, assessment of food production. Foodconindo food machine, Jakarta.
- Instituto Nacional Tecnológico. (2016). ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA ANIMAL. From https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Anatomia_y_Fisiologia_Animal.pdf
- León, A. (2009). Manual de Histología general veterinaria. La Habana, Cuba: Editorial Universitaria. From <https://elibro.net/es/ereader/uta/71371?page114>
- López, F. (2014). Las proteínas de los alimentos. Editorial CSIC Consejo Superior de Investigaciones Cientificas. <https://elibro.net/es/ereader/uta41772?page=14>
- Lugo, P. (2006). Estimulación de la síntesis de colágeno en cultivos celulares, posible tratamiento de enfermedades degenerativas mediante la dieta. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Granada. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/tesis/47720.pdf>

- Micheau, A., Hoa, D. & Borofka, S. (2020). Anatomía bovina - Atlas ilustrado. From <https://doi.org/10.37019/vet-anatomy/617929.es>
- Monroy Ávila, E. F., Peña Monroy, C. A., & Garzón Cortes, G. (2019). *Estrategias de producción más limpia -PML: caso aplicado a la industria de curtiembre*. *Producción más limpia*, 14(1), 61-65. <https://dxdoi.org/10.22507/pml.v14n1a5>
- MORERA, J., Química Técnica de Curtición., 2ª Edición., Igualada, España., Editorial Escuela Superior de Adobería., Editorial CETI., 2007., Pp. 16-18.
- NTE INEN 565. (1983). Determinación de la humedad del cuero. From <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/565.pdf>
- NTE INEN 936. (1984). CUERO DE GANADO VACUNO TERMINOLOGÍA. From <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/936.pdf>
- NTE INEN 1809, (1991). CUEROS. PIELES DE BOVINO, PORCINO, OVINO, CAPRINO Y EQUINO. REQUISITOS. From <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1809.pdf>
- NTE INEN 1870 (1994). CUEROS. PIELES DE BOVINO, PORCINO, OVINO, CAPRINO Y EQUINO DEFINICIONES. From <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1870.pdf>
- Ortiz, M. & Lumbí, D. (2016). CONTROL DE CALIDAD DEL CUERO BOVINO PARA SU APROVECHAMIENTO COMO PRODUCTO TERMINADO. Previo a la obtención de químico industrial. Universidad Autónoma de Nicaragua. Managua. From <https://repositorio.unan.edu.ni/4192/1/96796.pdf>
- Pilco, F. (2007). Obtención de cuero cristal con la utilización de diferentes niveles de resinas duras en pieles ovinas para la fabricación de vestimenta. Tesis previo a la obtención de zootecnista. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. From <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1749/1/17T0798.pdf>
- Prockop y Guzmán (1981). *El colágeno*. Obtenido de <http://www.oc.lm.ehu.es/Fundamentos/fundamentos/articulos/Art%C3%ADculos/CL002.pdf>

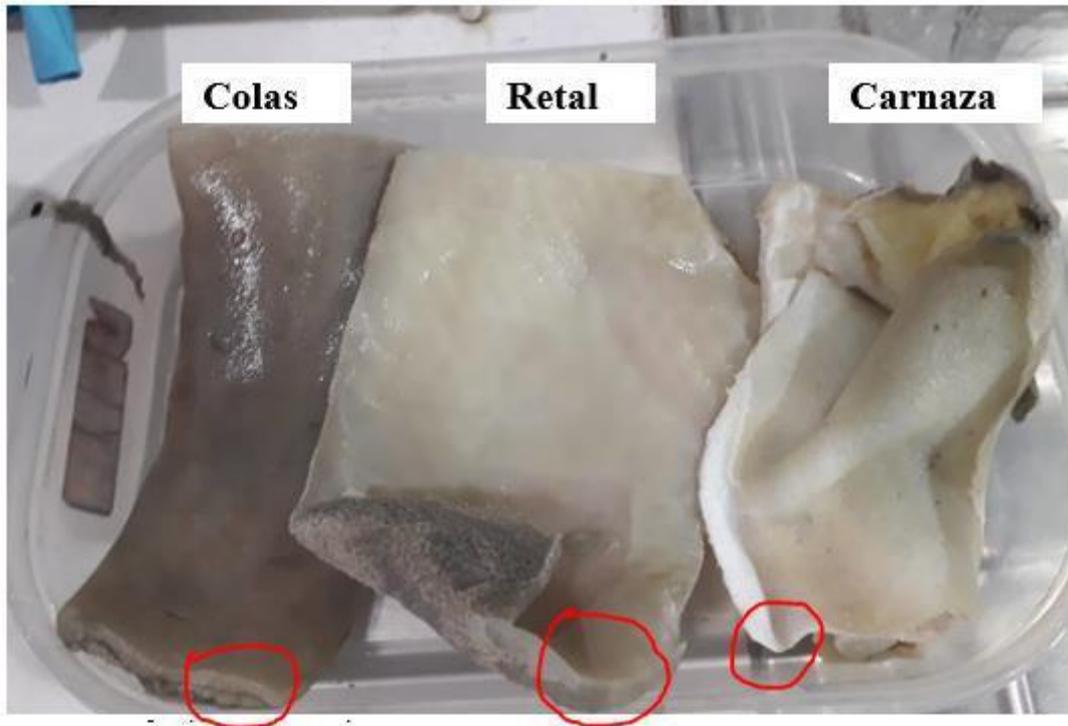
- Said, M. (2011). Optimization of production process goat skin gelatin es edible film raw material for drug packaging material (Capsule). Disertation, Graduate Program Faculty of Animal Science, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia.
- Serna, L., Velásquez , M., & Ayala, A. (2010). Efecto de la Ultrafiltración sobre las Propiedades Reológicas de Gelatina Comestible de Origen Bovino. *Scielo*, 91-1002.
- Serna, L., Pineda, D., & Ayala, A. APLICACIÓN DE ENDOPEPTIDASA ALCALINA EN CARNAZA BOVINA PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA GELATINA. *Revista Colombiana de Química*. 2007;36(2):169-181. <https://search.proquest.com/docview/1677631798?accountid=36765>
- Sompie, M., Surtijo, S., Pontoh, J. & Lontaan, N. (2015). The effects of acetic concentration and extraction temperature on physical and chemical properties of pigskin gelatin. *Procedia Food Sci.*, 3:383-388
- Tanbir, A., Ismail, A., Ahmade, S., Khalil K., Keea, L., Atta Awad, E. & Sazili, A. (2018). Physicochemical characteristics and molecular structures of gelatin extracted from bovine skin: effects of actinidin and papain enzymes pretreatment. *INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD PROPERTIES* 2019, VOL. 22, NO. 01, 138–153 <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1576731>
- Ulfah, M. (2011). Effect of acetic acid solution concentration and length of time soaking for properties chicken ceker gelatin, *J, Agric.*, 31:161-167
- Wang, L., Yang, R. & Du, X. (2008). Extraction of pepsin-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) *Food Chem.*, 111:638-686

ANEXOS

Anexo 1. Desechos de una curtiduría en Ambato

TIPO DE DESECHO	CANTIDAD
COLAS	
	28 800 UNIDADES POR MES
CARNAZA	
	150 720 KG POR MES
RETAL	
	8 381 KG AL MES

Anexo 2. Fotografía de muestras.



Anexo 3. Fotografía de muestra lavadas y cortadas de a 1-2 cm².

Colas

Retal

Carnaza



Anexo 4. Muestras sumergidas en ácido acético.



Anexo 5. Muestras sumergidas en ácido acético después de 24h.

Colas

Retal

Carnaza



Nota: Se puede apreciar el hinchamiento del colágeno, especialmente el aumento de peso en la carnaza.