



**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA
RESIDENCIA PROFESIONAL**

NOMBRE DEL PROYECTO:

“Extracción de colágeno a partir de piel y huesos de “pez diablo”
(*Hypostomus plecostomus*).

EMPRESA:

Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.

ALUMNO:

Griselda Ramírez Trujillo.

No. DE CONTROL: 14270831.

CARRERA:

Ingeniería Química.

FECHA DE INICIO

27 de Agosto del 2017.

FECHA DE TERMINACIÓN

27 de Diciembre del 2017.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios quien me ilumina y me protege cada día.

A mis queridos padres: Marco Antonio Ramírez Gómez y Maribel Trujillo Castro, quienes me han brindado todo su apoyo para poder cumplir con mi objetivo que fue la realización de mi residencia, con sacrificio y mucha paciencia me han ayudado a salir adelante, a mis hermanos, por estar siempre conmigo, y a todas esas personas que siempre estuvieron ahí apoyandome y motivandome a seguir adelante.

A mi asesor de residencia el Dr. Juan José Villalobos Maldonado por todo el tiempo que me han dado, por su apoyo y asesoramiento la cual fue de gran importancia para la realización de este proyecto.

RESUMEN

El colágeno es la proteína constituyente de los tejidos conjuntivos, es la más abundante en los organismos, su función principal es la de mantener la estructura de los tejidos, su resistencia y flexibilidad, resultando de alto valor comercial en industrias cosméticas, farmacéuticas, biomedicas y de materiales, por lo cual es conveniente buscar alternativas de obtención en diferentes organismos, en este trabajo se pretende extraer colágeno por medio del método soluble en ácido. El objetivo de esta investigación fue caracterizar colágeno insoluble en ácido (CSA) de huesos y piel de *Hypostomus plecostomus*, siendo el método ácido el que genera un mayor rendimiento de extracción.

ABSTRACT

Collagen is the constituent protein of connective tissues, it is the most abundant in organisms, its main function is to maintain the structure of tissues, its resistance and flexibility, resulting in high commercial value in cosmetic, pharmaceutical, biomedical and of materials, for which it is convenient to look for alternatives of obtaining in different organisms, in this work it is tried to extract collagen by means of the acid-soluble method. The objective of this research was to characterize collagen insoluble in acid (CSA) of bones and skin of *Hypostomus plecostomus*, being the acid method the one that generates a higher yield of extraction.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
2	PROBLEMA A RESOLVER.....	3
3	OBJETIVOS	4
3.1	3.1 General	4
3.2	3.2 Específicos	4
4	JUSTIFICACIÓN.....	5
5	ANTECEDENTES	6
5.1	5.1 TIPOS DE COLÁGENO.....	6
6	5.2 TIPOS DE COLÁGENO SEGÚN SU PROCEDENCIA.....	8
6.1	5.2.1 Colágeno bovino.....	8
6.2	5.2.2 Colágeno porcino.....	8
6.3	5.2.3 Colágeno marino	9
7	Estructura del colágeno.....	10
8	BIOSÍNTESIS DEL COLÁGENO.....	15
9	USOS Y APLICACIONES DEL COLÁGENO	16
10	FUENTES DE OBTENCIÓN	19
11	COLÁGENO EN ORGANISMOS TERRESTRES	21
12	COLÁGENO EN ORGANISMOS ACUÁTICOS	21
13	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	23
13.1	13.1 Descripción de la especie.	25
13.2	DISTRIBUCIÓN	26
13.3	13.3. REPRODUCCIÓN	28
13.4	ALIMENTACIÓN.	32
13.5	LONGEVIDAD.	32
14	METODOLOGÍA.....	33
14.1.	Obtención de la materia prima	33
14.1	CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA	34
14.2	Humedad..... ¡Error! Marcador no definido.	
14.3	Grasa.....	34
14.4	Proteína	35

14.5	Cenizas totales.....	35
15	PRETRATAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA.....	37
15.3.2.	Eliminación de grasa.....	38
15.3.3.	Desmineralización de huesos	39
16	EXTRACCIÓN DE COLÁGENO	40
16.1.	Colágeno soluble en ácido (CSA).....	40
17	CARACTERIZACIÓN BIQUÍMICA DEL COLÁGENO.....	41
17.1.	Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)	41
17.1	Espectrometría Infrarroja	42
17.2	Espectroscopia de UV	42
17.3	Cuantificación de extracto proteico	42
17.4	Efecto del NaCl sobre la solubilidad	43
17.5	Efecto del pH sobre la solubilidad	43
17.6	Formulación de películas.....	43
18	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
18.1.	Análisis proximal de la materia prima	44
18.1	CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA	46
18.3	RENDIMIENTO DE EXTRACTO CRUDO OBTENIDO A PARTIR DEL MÉTODO CSA Y CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA.....	48
19	VERIFICACIÓN DE LA EXTRACCIÓN	49
20	CONCLUSIONES	52
21	BIBLIOGRAFÍA.....	53

1 INTRODUCCIÓN

Las proteínas más abundantes en la matriz extracelular son aquellas que pertenecen a la familia del colágeno (**Gelse et al. 2003**). El colágeno es la proteína más abundante de origen animal (**Muyonga et al. 2004**), que constituye aproximadamente el 25- 30 % de todas las proteínas de los organismos animales (**Bae et al. 2008**), es un componente importante de todos los tejidos conectivos del cuerpo (músculos, dientes, huesos, cartílagos, tendones, ligamentos y piel) (**Potaros et al. 2009**), su distribución del colágeno en el cuerpo consta de un 85% en tendones, 75% en la piel, 70% ligamentos, 70% en cartílagos articulares, un 20% en los huesos y un 6% en los músculos tendinosos, pero se concentra especialmente en los tejidos asociados a la piel y en el tejido intersticial de prácticamente todos los órganos, donde pueden contribuir a la estabilidad de los tejidos y órganos, y mantener su estructura e integridad. (**Gelse et al. 2003**).

El colágeno está constituido por tres cadenas polipeptídicas, lo cual quiere decir que cada una de las cadenas cuenta con 1000 aminoácidos por cadena,

El colágeno se encarga de unir los tejidos conectivos (músculos, tendones, ligamentos, piel, huesos, cartílagos, tejido hematológico, tejido adiposo, y órganos) por lo tanto actúa como un elemento de sosten que permite mantener unido el conjunto del cuerpo. Su función consiste en la formación de las fibras a partir de las que se crean estructuras del organismo; por lo tanto es el responsable del grado de firmeza y elasticidad de estas estructuras y tiene un papel esencial en su hidratación.

La fibra del colágeno tiene la capacidad de mezclarse con muchos tipos de sustancias y minerales; en el caso de los huesos, la combinación del colágeno con cristales de calcio permite la formación de una estructura dura y rígida; en la piel, se mezcla con la elastina y la estructura resultante tiene forma de red; en el caso de los cartílagos, se

combina también con elastina y con otro tipo de sustancia que forma un gel que absorbe los impactos producidos por los movimientos de las articulaciones.

A medida que pasan los años y el cuerpo envejece , la producción de colágeno se va reduciendo gradualmente.

Se calcula que a los 40 años el organismo produce la mitad del colágeno que en la adolescencia. Cuando se va perdiendo la calidad y cantidad de esta proteína, la piel va disminuyendo su elasticidad, también se presenta fragilidad en uñas, pérdida de elasticidad del cabello , aparición de manchas tipo lunar en brazos y manos, endurecimiento de los tejidos y las válvulas cardíacas, fragilidad de los discos intervertebrales y desgaste de meniscos.

Inicialmente, el colágeno se obtiene principalmente de origen porcino y bovino, pero la comunidad científica busca nuevas fuentes de extracción de la proteína debido al rechazo generado por las enfermedades bovinas que pueden pasar a los humanos y las creencias de carácter religioso. Una fuente que actualmente se estudia es la piel de pescado, producto del proceso de fileteo. Los piscicultores presentan estas pieles como material no deseado.

Con el desarrollo de aplicaciones del colágeno, se ha convertido en un producto de alta demanda en diferentes sectores del país, el aumento de la producción de filetes. Debido al creciente uso de colágeno por las diversas industrias ha sido necesario estudiar un proceso de extracción de colágeno a partir de piel de pescado que permita suplir las necesidades del mercado nacional sin devaluar la calidad del producto.

Con base en la hipótesis de que “ las pieles provenientes del proceso de fileteo de pez diablo ” (*Hypostomus plecostomus*) son potenciales materias primas sustitutas de los tradicionales bovinas y porcina en la obtención de colágeno tipo I.

2 PROBLEMA A RESOLVER

Se busca disminuir de manera considerable la invasión de este pez (*Hypostomus plecostomus*), ya que es considerada como una de las mayores amenazas para la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos continentales, y para las pesquerías de agua dulce en México.

3 OBJETIVOS

3.1 3.1 General

- ❖ Corroborar con un proceso que permita la extracción de colágeno a partir de pez diablo (*Hypostomus plecostomus*).

3.2 3.2 Específicos

- ❖ Obtener colágeno de huesos y piel de pez diablo a base del método de extracción Colágeno Soluble en Ácido. (CSA).
- ❖ Caracterizar el colágeno extraído de huesos y piel.
- ❖ Formular películas a base de colágeno proveniente del método de extracción.

4 JUSTIFICACIÓN

Resulta de gran interés establecer la metodología descrita, para la extracción de colágeno utilizando como materia prima el pez diablo (*Hypostomus plecostomus*).

De igual manera el rendimiento de extracción de colágeno proveniente de residuos de peces, es mayor en relación con otras fuentes como son porcinos y bovinos.

Respecto al ámbito ambiental se presenta como una alternativa de solución a la problemática ambiental generando productos que aprovechan los subproductos de la industria piscícola, y también tiene impacto en cuanto a la coherencia que tiene con las tendencias actuales de uso de ingredientes naturales con mínimos riesgos ambientales durante su proceso de producción y la reducción en el uso de químicos en su elaboración.

5 ANTECEDENTES

5.1 5.1 TIPOS DE COLÁGENO

El colágeno en lugar de ser una proteína única, se considera una familia de moléculas estrechamente relacionadas pero genéticamente distintas. Se describen varios tipos de colágeno:

- ❖ **Colágeno tipo I:** Se encuentra abundantemente en la dermis, el hueso, el tendón, la dentina y la córnea. Se presenta en fibrillas estriadas de 20 a 100 nm de diámetro, agrupándose para formar fibras colágenas mayores. Sus subunidades mayores están constituidas por cadenas alfa de dos tipos, que difieren ligeramente en su composición de aminoácidos y en su secuencia. A uno de los cuales se designa como cadena alfa1 y al otro, cadena alfa2. Es sintetizado por fibroblastos, condroblastos y osteoblastos. Su función principal es la de resistencia al estiramiento.
- ❖ **Colágeno tipo II:** Se encuentra sobre todo en el cartílago, pero también se presenta en la córnea embrionaria y en la notocorda, en el núcleo pulposo y en el humor vítreo del ojo. En el cartílago forma fibrillas finas de 10 a 20 nanómetros, pero en otros microambientes puede formar fibrillas más grandes, indistinguibles morfológicamente del colágeno tipo I. Están constituidas por tres cadenas alfa2 de un único tipo. Es sintetizado por el condroblasto. Su función principal es la resistencia a la presión intermitente.
- ❖ **Colágeno tipo III:** Abunda en el tejido conjuntivo laxo, en las paredes de los vasos sanguíneos, la dermis de la piel y el estroma de varias glándulas. Parece un constituyente importante de las fibras de 50 nanómetros que se han llamado tradicionalmente fibras reticulares. Está constituido por una clase única de cadena alfa3. Es sintetizado por las células del músculo liso, fibroblastos, glía. Su función es la de sostén de los órganos expandibles.
- ❖ **Colágeno tipo IV:** Es el colágeno que forma la lámina basal que subyace a los epitelios. Es un colágeno que no se polimeriza en fibrillas, sino que forma un fieltro de moléculas orientadas al azar, asociadas a proteoglicanos y con las

proteínas estructurales laminina y fibronectina. Es sintetizado por las células epiteliales y endoteliales. Su función principal es la de sostén y filtración.

- ❖ **Colágeno tipo V:** Presente en la mayoría del tejido intersticial. Se asocia con el tipo I.
- ❖ **Colágeno tipo VI:** Presente en la mayoría del tejido intersticial. Sirve de anclaje de las células en su entorno. Se asocia con el tipo I.
- ❖ **Colágeno tipo VII:** Se encuentra en la lámina basal.
- ❖ **Colágeno tipo VIII:** Presente en algunas células endoteliales.
- ❖ **Colágeno tipo IX:** Se encuentra en el cartílago articular maduro. Interactúa con el tipo II.
- ❖ **Colágeno tipo X:** Presente en cartílago hipertrófico y mineralizado.
- ❖ **Colágeno tipo XI:** Se encuentra en el cartílago. Interactúa con los tipos II y IX.
- ❖ **Colágeno tipo XII:** Presente en tejidos sometidos a altas tensiones, como los tendones y ligamentos. Interactúa con los tipos I y III.
- ❖ **Colágeno tipo XIII:** Es ampliamente encontrado como una proteína asociada a la membrana celular. Interactúa con los tipos I y III.
- ❖ **Colágeno tipo XIV:** Aislado de placenta; también detectado en la médula ósea.
- ❖ **Colágeno tipo XV:** Presente en tejidos derivados del mesenquima.
- ❖ **Colágeno tipo XVI:** Intima asociación con fibroblastos y células musculares lisas arteriales; no se asocia fibrillas colágenas tipo I.
- ❖ **Colágeno tipo XVII:** Colágeno de Transmembrana no se halla habitualmente en la membrana plasmática de las células.
- ❖ **Colágeno tipo XVIII:** Presentes en las membranas basales, epiteliales y vasculares.
- ❖ **Colágeno tipo XIX:** Se localiza en fibroblastos y en el hígado.
- ❖ **Colágeno tipo XX:** Presente en la córnea, en el cartílago esternal y en los tendones.
- ❖ **Colágeno tipo XXI:** Hallado en encías, músculo cardíaco y esquelético y otros tejidos humanos con fibrillas de colágeno tipo I.

6 5.2 TIPOS DE COLÁGENO SEGÚN SU PROCEDENCIA

6.1 5.2.1 Colágeno bovino

La fuente de la que se extrae el colágeno bovino es la piel de vaca, que es esterilizada, purificada y transformada tecnológicamente en una preparación líquida de uso cosmético cuyo principal mercado está representado por productos destinados al relleno de la piel.

Esta proteína bovina, en concreto, entraña un riesgo sanitario por eventual presencia de priones, unas proteínas potencialmente dañinas cuya modificación de su configuración natural es capaz de convertirlas en agentes infecciosos de enfermedades mortales del sistema nervioso central como la enfermedad de Creutzfeld-Jacob o el kurú. Tal riesgo es inexistente en el caso de los peces, en los que hasta el momento, como en el resto de organismos inferiores, está descartada la presencia de priones.

Podría hablarse de ciertos riesgos adicionales asociados al uso de colágeno bovino, como reacciones alérgicas o trastornos del tejido conectivo, como artritis y lupus eritematoso, que no obstante registran una mínima incidencia entre sus consumidores.

Por otra parte, debe tenerse en cuenta que el colágeno bovino se degrada progresivamente en el cuerpo, por lo que sus efectos no suelen extenderse más allá de un año.

6.2 5.2.2 Colágeno porcino

Extraído, de forma análoga al caso anterior, de la piel del cerdo, está especialmente indicado para los tratamientos de reemplazo de colágeno mediante inyección subcutánea para lograr el alisamiento de la piel.

Todas las explotaciones porcinas son monitorizadas con vistas a garantizar la completa trazabilidad y sometidos a un control veterinario exhaustivo todos los movimientos de entrada de nuevos animales, a los que se les exige un estatus sanitario igual o superior que el de la explotación de destino.

6.3 5.2.3 Colágeno marino

El colágeno marino, contrariamente a lo consolidado por ciertas leyendas urbanas, no procede de algas sino de las espinas y la piel de los peces. Su valor biológico y su biodisponibilidad son equiparables a los de origen terrestre, pero a diferencia de estos, el colágeno marino se consume como complemento alimenticio o en presentaciones de uso tópico, nunca en forma inyectable.

Funcionalmente tiene una excelente virtud: estimula la producción endógena de colágeno, no limitándose a reemplazar al ausente. En su forma hidrolizada, que es la que debe utilizarse, contribuye a preservar la salud osteoarticular en personas mayores o aquejadas de dolencias de ese tipo, así como a frenar el desencadenamiento de los clásicos procesos degenerativos como la osteoporosis y la osteoartritis. Diversas compañías de cosméticos ya abastecen el mercado de diferentes cremas y comprimidos a base de colágeno marino.

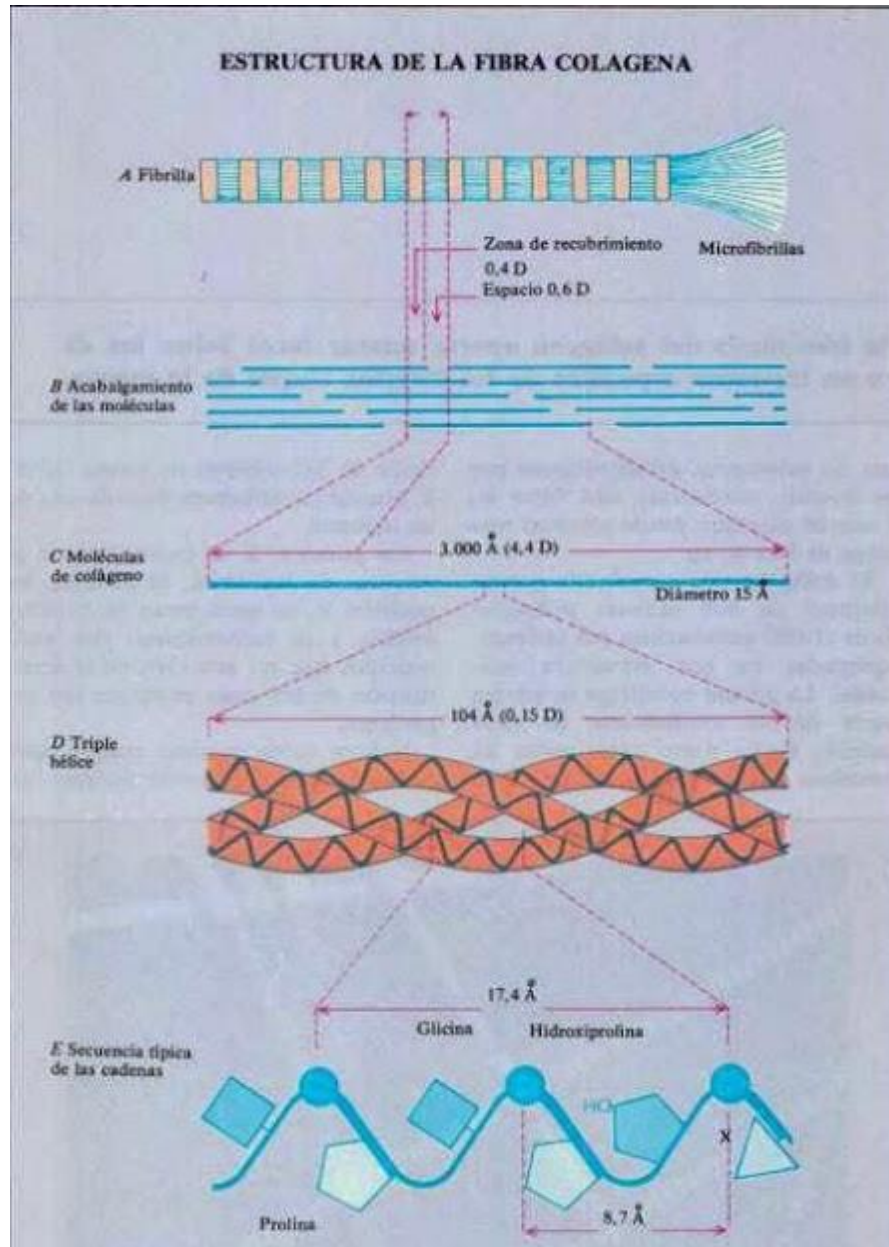
Son muchas las propiedades inherentes al colágeno marino, que sintetizaremos en las que se proyectan sobre los siguientes objetivos:

- ❖ **Piel:** prolonga su elasticidad y evita la aparición de arrugas, dotando a la piel de mayor capacidad de retención de agua y favoreciendo la regeneración de las células dérmicas.
- ❖ **Cabello:** los folículos pilosos se ven vigorizados, ganando el cabello en ritmo de crecimiento, calibre y vitalidad.
- ❖ **Huesos y uñas:** se trata de dos elementos anatómicos tendentes a aumentar su riesgo de quebrarse, pudiendo verse frenada esta tendencia con la ingesta de colágeno marino, que fomenta la síntesis de este material de soporte.
- ❖ **Músculos:** el colágeno marino contribuye a optimizar la síntesis de creatina, un ácido orgánico indispensable en el transporte de energía hacia el citoplasma de las miofibrillas

7 Estructura del colágeno

El colágeno, proteína constituyente de los tejidos conjuntivos, como la piel, los tendones y el hueso, es la proteína más abundante del organismo. Se caracteriza principalmente por su notable resistencia: una fibra de 1 mm de diámetro puede soportar una carga de 10 a 40 kg. El colágeno está constituido por un conjunto de tres cadenas polipeptídicas (1.000 aminoácidos por cadena), agrupadas en una estructura helicoidal. La glicina constituye la tercera parte de los aminoácidos de cada cadena, hecho único entre todas las proteínas del organismo. La repetición de 333 tripletes de forma Gli-Xy preside la estructura de cada una de las cadenas. En posición X se encuentra, en la mayoría de los casos, la prolina; en posición Y, se encuentran la hidroxiprolina y la hidroxilisina, dos aminoácidos que no abundan en la constitución de las otras proteínas del organismo. Existen como mínimo cuatro tipos de colágeno genéticamente distintos, en función de la estructura de las cadenas polipeptídicas o cadenas alfa. La estructura helicoidal, responsable de la rigidez y la resistencia de las fibras, es específica de la molécula de colágeno.

Cuadro 1. estructura de la fibra colagena. (TIEMPOS MEDICOS I N.o 191 -Septiembre 1981)



Cuadro 2. Tipos de colagenos agrupados según las estructuras macromoleculares que forman. (Iracheta, 2010).

Tipo	Composición de la molécula	Características estructurales	Tejidos Representativos
Colágeno Fibrilar			
I	$[\alpha 1(I)]_2[\alpha 2(I)]$	Fibras de 300 nm de longitud	Piel, tendón, hueso, ligamentos, dentina, tejidos intersticiales, estroma corneal
II	$[\alpha 1(II)]_3$	Fibras de 300 nm de longitud	Cartílago, humor vítreo
III	$[\alpha 1(III)]_3$	Fibrillas de 300 nm de longitud; A menudo con tipo I	Piel, músculo, vasos sanguíneos
V	$[\alpha 1(V)]_3$	Fibrillas de 390 nm de longitud con dominio N-terminal globular; A menudo con tipo I	Similar al tipo I; También cultivos celulares, tejidos fetales, estroma corneal
Colágenos Asociados a Fibras			
VI	$[\alpha 1(VI)][\alpha 2(VI)]$	Asociación lateral con el tipo I; Dominios globulares periódicos	La mayoría de los tejidos intersticiales
IX	$[\alpha 1(IX)][\alpha 2(IX)][\alpha 3(IX)]$	Asociación lateral con el tipo II; dominio globular N-terminal; Glicosaminoglucano unido	Cartílago, humor vítreo;
Hoja de formación de colágenos			
IV	$[\alpha 1(IV)]_2[\alpha 2(IV)]$	Red bidimensional	Todas las láminas basales

El colágeno es un componente de la matriz extracelular de los tejidos incluyendo la piel, el hueso, el cartílago, el tendón y el ligamento. Por lo que el colágeno es el principal componente del tejido músculo-esquelético, es importante en la función celular, y le proporciona fuerza al tejido.

El colágeno se compone de tres cadenas polipeptídicas entrelazadas formando una triple hélice, proporcionando estabilidad en los tejidos (Lodish, et al, 2000). Su unidad estructural fundamental es una proteína larga (300 nm), con un diámetro de 1,5 nm que consta de tres subunidades en espiral. Cada cadena contiene alrededor de 1050 aminoácidos. Eventualmente se encontró que todos los colágenos contenían segmentos helicoidales de tres cadenas con estructura similar.

Las propiedades de cada tipo de colágeno se deben principalmente a segmentos que interrumpen la triple hélice y que se pliegan en otros tipos de estructuras tridimensionales (Lodish, et al, 2000). (Figura 1).

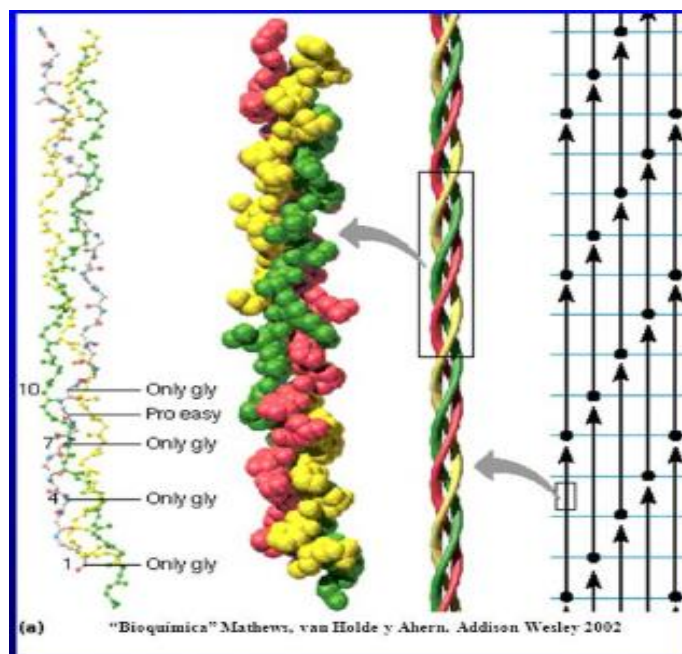


Figura 1. Estructura de las fibras y aminoácidos constituyentes del colágeno (Mathews et. Al 2002).

En general, el colágeno de animales marinos tienen un bajo contenido de hidroxiprolina (aminoácido no esencial, derivado de la prolina.) y consecuentemente su temperatura de desnaturalización es baja aproximadamente de 25 °C a 30 °C (Nagai and Suzuki, 2000), en comparación al colágeno contenido en porcinos que es aproximadamente 37°C (Nagai and Suzuki, 2000).

En algunos países religiosos existen restricciones en cuanto a la aplicación de colágeno derivado de mamíferos es por ello que se requiere investigar fuentes alternativas para la obtención de colágeno tipo uno (Tang, Saito, 2015).

Las tres cadenas polipeptídicas son similares en secuencia, con una secuencia repetitiva de glicina-X-Y, donde X e Y son por lo general prolina y / o hidroxiprolina. La triple estructura helicoidal se forma a través de enlaces de hidrógeno y enlaces peptídicos presentes en la glicina y adyacentes al péptido de grupo carbonilo (Yamauchi, 1998).

El colágeno es degradado en la superficie de los tejidos, por las enzimas colagenasas, que pueden unirse a la triple hélice. Esto da lugar a que la hélice se disgregue y aumente la exposición de las cadenas polipeptídicas a enzimas de degradación adicionales (Fratzl, 2008).

El colágeno está presente en la curación de las heridas epiteliales, promoviendo la coagulación de la sangre, además, el colágeno contiene dominios de adhesión celular. Esto ha hecho que el colágeno sea utilizado como un andamio para el cultivo de células, como fibroblastos. Los andamios de colágeno permiten que los fibroblastos se desarrollen y estos fibroblastos a su vez, mantienen la producción de colágeno. También se ha encontrado que los hepatocitos aislados de ratas se unen y secretan albúmina mientras crecen en los andamios compuestos de colágeno y quitosano. El crecimiento y la síntesis de proteoglicanos de queratinocitos corneales se ha llevado a cabo sobre esponjas de colágeno (Fratzl, 2008).

8 BIOSÍNTESIS DEL COLÁGENO

Una vez que ha sido sintetizada, la molécula de colágeno presenta la particularidad de que experimenta una serie de modificaciones antes de llegar a su estructura definitiva. La lectura del ARN mensajero por los polirribosomas del retículo endoplasmático constituye la fase inicial de la biosíntesis (figura 2).

A continuación, los polisomas se encargan de ensamblar los aminoácidos para formar las cadenas polipeptídicas. Estas cadenas polipeptídicas, precursoras de las cadenas alfa (cadenas proalfa), llevan en sus extremos secuencias suplementarias de aminoácidos. Las cadenas proalfa van a sufrir una hidroxilación en el seno del retículo endoplasmático, mediante la cual un centenar de grupos peptidilprolina se transforman en hidroxiprolina y una veintena de grupos peptidil-lisina se convierten en hidroxilisina. Acto seguido, se fijan en los grupos hidroxilisina moléculas de galactosa y glucosa, mientras que en los grupos terminales de las cadenas se fijan otros azúcares. Por último, se crean puentes disulfuro entre las cadenas polipeptídicas, llegándose así a la formación de la molécula de procolágeno. La molécula de procolágeno transita por las vesículas de Golgi y pasa al medio extracelular, en el cual, bajo la acción de las proteasas, sufre una escisión de los grupos N-terminal y C-terminal. Después de esta escisión, las moléculas de colágeno se constituyen en fibras.

Se piensa que los grupos terminales desempeñan un papel importante en la formación de la triple hélice. Lo más probable es que intervengan para evitar que la formación de las fibras colágenas se realice antes de la secreción de la proteína. Por último, la creación de enlaces transversales entre las cadenas polipeptídicas asegura la gran solidez de la molécula.

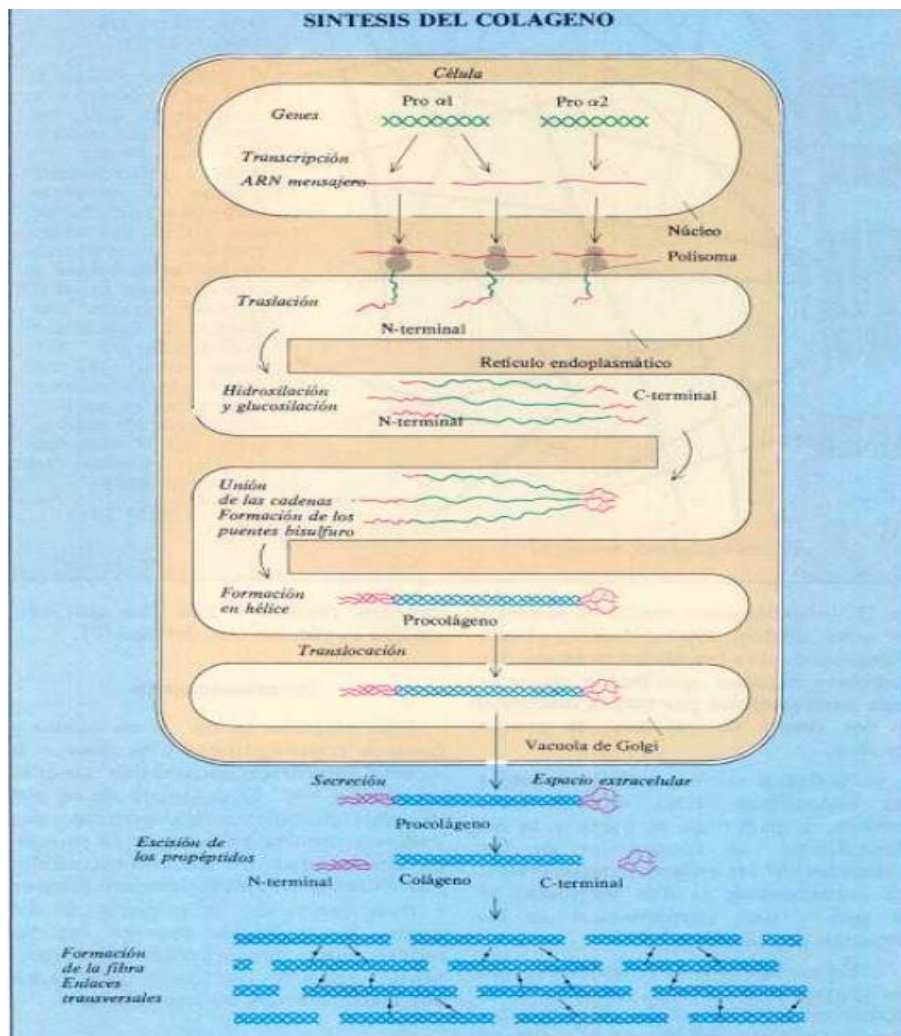


Figura 2: Síntesis del colágeno

9 USOS Y APLICACIONES DEL COLÁGENO

Gracias a sus características químicas únicas, el colágeno se ha utilizado en diversos campos de la industria (Bae et al. 2008), tiene aplicaciones en materiales biomédicos, en la industria farmacéutica, cosmética y en alimentos (Potaros et al. 2009).

Los biomateriales han tenido gran importancia para la Ingeniería de Tejidos, ya que este campo se basa en la utilización de estos materiales. Al respecto se han realizado diferentes estudios para demostrar la aplicabilidad del colágeno como biomaterial en la ingeniería de tejidos. Se han demostrado aplicaciones en la ingeniería de tejidos cardiovascular con el desarrollo de un “scaffold” de colágeno, que tiene la función de

permitir la adhesión celular y la proliferación de las células específicas del tejido a tratar (Lu et al. 2004). También las esponjas de colágeno son usadas comúnmente como biomaterial biodegradable, las cuales se han empleado en implantes de tejido conectivo del hueso, prótesis para la regeneración del nervio y apósitos para heridas (Schoof et al. 2001). Se ha aplicado en la ingeniería de tejido de cartílago (Riesle et al. 1998) y en la ingeniería de tejido óseo (Bitar et al. 2007).

En la industria farmacéutica y cosmética tiene gran importancia la aplicación de colágeno, gracias a las bondades que esta proteína tiene. Se ha utilizado para la prevención y tratamiento de arrugas, en la producción de parches para heridas y en el desarrollo de medicamentos con liberación de los principios activos. A partir de los 25 años de edad se va perdiendo colágeno del organismo humano lo que va produciendo señales de envejecimiento. Para disminuir este efecto, se han desarrollado diferentes productos a base de colágeno que permitan detener en cierta medida este proceso o por lo menos retrasarlo. Es así como se han creado productos como cremas, geles, lociones y mascarillas, además de inyecciones subcutáneas para aplicarse directamente en la piel.

Pero el colágeno no solo se ha utilizado en aplicaciones cosméticas; desde hace pocos años se ha empezado a introducir en el mercado de los complementos nutricionales de uso oral. Esta aplicación tiene ventajas frente al uso de cremas y lociones ya que el complemento alimenticio penetra hasta las capas más profundas de la piel, gracias a que los aminoácidos que componen el colágeno son absorbidos y utilizados para la regeneración del tejido conjuntivo, en el desarrollo de este producto se ha utilizado el colágeno marino por su mayor disponibilidad en contraposición con el colágeno tradicional.

Respecto al colágeno para el tratamiento de heridas, se han desarrollado productos como parches y apósitos o gasas, los cuales tienen grandes beneficios al momento de la cicatrización. Se ha evidenciado que la fuerza tensil de las cicatrices se aumento en un 40% y también que acelera la reparación tisular, disminución de la respuesta inflamatoria local, beneficia la capacidad para reducir la carga bacteriana e incentiva la

formación de tejido conectivo (González Tuero et al. 2004) A continuación se presenta la Tabla 1.1 donde se compara el perfil de aminoácidos del colágeno presente en la piel humana y en la piel de peces como la tilapia nilótica, como porcentaje total.

Tabla .1 contenido de aminoácidos del colágeno tipo 1 de piel humana y de pescado (zeng et al. 2009)

Aminoácido	% aminoácido en colágeno Tipo I (piel humana) (Devlin 2004)	% aminoácido en colágeno Tipo I (piel de pescado) (Zeng et al. 2009)
Alanina	11	11,9
Arginina	5	5,8
Asparagina	5	4,2
Glutamina	7	6,9
Glicina	33	35,6
Histidina	0,5	0,6
Isoleucina	1	0,8
Leucina	2	2,0
Lisina	2	2,0
Metionina	0,6	0,5
Fenilalanina	1	1,3
Prolina	13	12,8
Serina	4	3,2
Treonina	2	2,2
Triptófano	2	0
Tirosina	0,3	0,3
Valina	2	1,7
4 - hidroxiprolina	8,6	8,2
TOTAL	100	100

Como se puede observar en la Tabla 2.5.1 las diferencias en el contenido de aminoácidos presentes en el colágeno de piel humana y de pescado son pequeñas, en el caso más notable la diferencia en el porcentaje de glicina es igual a 2,6 %. Esto indicaría que el colágeno obtenido de pieles de pescado puede ser empleado en la formulación de productos cosméticos o implantes a base de colágeno para seres humanos sin que generen respuesta inmune por parte del paciente.

10 FUENTES DE OBTENCIÓN

La principal fuente de extracción de colágeno ha sido hasta el momento de los residuos del beneficio de especies bovinas y de la piel, huesos y cartílagos de cerdo (Wang et al. 2008). Estas fuentes tradicionales de colágeno presentan dificultades y son inapropiados para muchos grupos religiosos y étnicos debido a limitaciones socio-culturales. En el caso del judaísmo y el Islam se prohíbe el consumo de productos relacionados con el cerdo, y para los hindúes se prohíbe el consumo de productos relacionados con las vacas (Karim and Bhat 2009), y también se ven restricciones en su consumo por condiciones de salud ya que se teme ante enfermedades como la de la encefalopatía espongiiforme bovina y la fiebre aftosa (Potaros et al. 2009).

También existen otro tipo de limitaciones como son los costos de obtención de colágeno de bovinos, ya que se ve afectado por el alto valor que tiene el levante de este tipo de animales y de la baja productividad en colágeno. Debido a la problemática anterior ha sido de gran importancia encontrar fuentes alternativas de materia prima para la obtención de colágeno, entre las estudiadas se encuentran las que se pueden obtener del medio acuático (Senaratne et al. 2006) como son la piel, huesos y escamas de pescado.

Con la búsqueda de nuevas fuentes de colágeno se han realizado diferentes estudios para evaluar las propiedades funcionales del colágeno de origen de pescado, analizando las pieles de pescados de agua dulce y agua salada (Woo et al. 2008), por ejemplo: bacalao común (Sadowska et al. 2003), perca común (Muyonga et al. 2004), carpa gris (Zhang et al. 2007), tiburón bambú (Kittiphattanabawon et al. 2010), carpa plateada (Zhang et al. 2009) y tilapia nilótica (Zeng et al. 2009). Estos artículos se han concentrado en analizar el colágeno obtenido y en proponer procesos de obtención de colágeno a partir de las pieles de estas especies.

Cuadro 3. Fuentes de extraccion y produccion de colágeno (Dasong Lui, 2014)

ESPECIE	TIPO DE COLÁGENO	FUENTE Y METODO DE EXTRACCIÓN	RENDIMIENTO (%)	REFERENCIA
Bos taurus (bovino)	Tipo 1	Extraccion en piel (CSA) (CIS)	6.7 Y 5.2	Hamilton, 2013
Bos taurus	Tipo 1	Extraccion es cascos (CSA)	7.2	Peralta, 2012
Bos taurus	Tipo 1	Extraccion en piel (CSA) (CIS)	5.8 Y 4	Omura, 2016
Susscrofa domesticus	Tipo 1	Extraccion en huesos (CSA) (CSP)	9.1 Y 14.2	Hui cao, 2003

CSA: Colágeno soluble en ácido.

CSP: Colgágeno soluble en pepsina.

CIS: Colágeno insoluble en sal.

Debido a lo anterior resulta de gran importancia la busqueda de fuentes alternativas de colágeno, entre las estudiadas se encuentran las que se pueden obtener residuos de especies acuáticas (Senarathe et al. 2006) como son la piel, huesos y escamas de pescado.

11 COLÁGENO EN ORGANISMOS TERRESTRES

El colágeno generalmente constituye del 20 al 25 % de la proteína total de los vertebrados superiores (Belitz, 1999) y alrededor de un tercio o más del cuerpo humano (Lehninger y et al. 1995). Al menos cuatro tipos de colágeno (I, III, IV, y V) se han identificado en músculos de mamíferos y aves (Haard, 1995); en bovinos y cerdos se ha encontrado que contienen principalmente colágeno tipo I y III (Sikorski, 2001).

Por otro lado, el colágeno presente influye significativamente en la textura del músculo, ya que en animales jóvenes es más inestable debido a que los puentes de hidrógeno que los unen están en menor número. En cambio, en animales maduros, el colágeno posee un mayor número de puentes de hidrógeno (que se forman con el tiempo y por lo tanto una mayor estabilidad. (Fennema, 2002). En mamíferos es el mayor componente del perimysio (células que rodean las células endoteliales de los capilares y vénulas pequeñas (Yoshimura y col., 2000; Sato y col., 1989).

12 COLÁGENO EN ORGANISMOS ACUÁTICOS

El contenido de colágeno en los organismos marinos es menor que en los mamíferos, variando del 1 al 12% de la proteína y del 0.2 al 2.2% del peso del músculo (Haard, 1995; Sato y col., 1986). Se ha demostrado que juega un papel importante en el mantenimiento de la estructura del músculo y está estrechamente relacionado con la capacidad natatoria de los peces (Feinstein y Buck, 1984; Sato y col., 1986; Sato y col., 1989) quizá debido a que es el mayor contribuyente de la fuerza tensil del músculo (Espe y col., 2003).

Los organismos acuáticos son heterogéneos en composición, el tipo de colágeno presente en estos y sus características varían de especie a especie. Sin embargo, se ha demostrado que el colágeno tipo I y V frecuentemente forman parte del tejido conectivo de los organismos marinos. Además, no se ha encontrado en cantidades detectables el tipo III, que en mamíferos es el mayor componente del perimysio (células

que rodean las células endoteliales de los capilares y vénulas pequeñas) (Yoshimura y col., 2000; Sato y col., 1989).

Cuadro 4. Referencias que describen diferentes metodologías para la extracción de colágeno a partir de peces.

AUTOR	ESPECIE	MATERIA PRIMA / MÉTODO DE EXTRACCIÓN	RESULTADOS
Chen et al. 2018	Oreochromis niloticus (Tilapia del Nilo)	Piel / CSA	Colágeno tipo I Rendimiento fue del 27.2 %
Kozłowska, 2015	Esox lucius (Pez lucio)	Piel / CSA Y CSP	Colágeno tipo I Rendimiento: CSA: 12.5 % CSP: 8.5 %
Zang, 2012	Rachycentron canadum (Pez cobia)	Piel / CSA Y CSP	Colágeno tipo I Rendimiento: CSA: 43.8 % CSP: 23.2 %
Sukumar et al. 2011	Odonus niger (Pez ballesta)	Piel, huesos y aletas / CSA Y CSP	Colágeno tipo I Rendimiento: Piel CSA: 46 % CSP: 50 %

			Huesos CSA: 30 % CSP: 38 %
Singh, 2011	Pangasianodon (Pez panga)	Piel / CSA Y CIS	Colágeno tipo I CSA: 7.7 % CIS: 5.1 %
Elechowska, 2010	Gadus morhua (Bacalao)	Huesos / CSA Y CIS	Colágeno tipo I CSA: 43 % CIS: 20 %
Duan et al, 2010	Cyprinus carpio (Pez carpa)	Piel / CIS Y CSA	Colágeno tipo I Piel CSA: 32 % CIS: 21%

Con la búsqueda de nuevas fuentes de colágeno se han realizado diferentes estudios para evaluar las propiedades funcionales del colágeno de pescados de agua dulce y salada (Woo et al. 2003), perca común (Muyonga et al. 2004), carpa gris (Zang et al. 2007) entre otros.

13 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Los métodos utilizados para la extracción de colágeno son muy variados y comprenden extracciones químicas (Huang, 2016) y enzimáticas (Benjakul, 2009) como se muestra en el cuadro 2.2. En estos dos métodos se ha reportado la extracción de colágeno tipo I exclusivamente, además de los que los rendimientos obtenidos son variados, dependiendo de la especie y de las partes que constituyen al pez.

Cuadro 5. ventajas y desventajas de los métodos de extracción de colágeno. (yessenia et al. 2016)

Método de extracción		ventajas	Desventajas
Química	Colágeno insoluble en sal (CIS)	Se elimina una mayor cantidad de proteínas no colagenosas, debido a las cargas iónicas de la proteína.	Desnaturalización de la proteína a causa de la inestabilidad por la temperatura y altas concentraciones de sales.
	Colágeno soluble en ácido (CSA)	Se puede combinar con enzimas mejorando la solubilidad del colágeno.	Extracción parcial del colágeno.
Enzimática	Colágeno soluble en pepsina (SCP)	Extrae colágeno sin restos de sustancias derivadas de la hidrólisis (sales) además no genera compuestos que afecten el color, sabor y olor de la solución.	Ruptura drástica sin selección de los enlaces a causa del ajuste incorrecto de pH.

13. PEZ DIABLO (*Hypostomus plecostomus*)

13.1 Descripción de la especie.



El pez diablo pertenece a la siguiente categoría taxonómica (Gaona, 2012)

Reino: Animalia Linnaeus

Pylum: Chordata Bateson

Clase: Osteichthyes Huxley

Orden: Siluriformes Cuvier

Familia: Loricariidae Rafinesque

Género: *Hypostomus*

Especie: *H. plecostomus*

Una de las mayores amenazas para la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos continentales, y para las pesquerías de agua dulce en México, son los llamados peces diablo, también conocidos como pecos, “limpiapeceras” o “limpia-vidrios”. Desde su

introducción en los cuerpos de agua epicontinentales del país (ríos, lagos, lagunas, esteros), se han expandido alarmantemente en unos cuantos años. Los plecos, un grupo de especies nativas de la cuenca del Amazonas en Sudamérica, pertenecen a la familia Loricariidae, de la cual se conocen hasta el momento más de 680 especies en el mundo y aún existen varias sin descubrir.

Tiene una pigmentación con manchas oscuras de tamaño inconstante en el vientre como leopardo, con un modelo geométrico en la cabeza . El borde posterior de proceso supraoccipital es delimitado por 3 escudos, y 2 escudos entre el escudo temporal y el segundo escudo predorsal. El número de escudos a lo largo de la línea lateral es de 29 a 30. La aleta dorsal tiene una espina y 11 radios; la aleta pectoral tiene una espina y 6 radios; la aleta pélvica tiene una espina y 5 radios (Armbruster & Page, 2006). Cuerpo cubierto con placas óseas flexibles, boca ventral succionadora. Abdomen cubierto irregularmente con grandes manchas blancas de diferentes tamaños unidas formando un patrón parecido a las de un leopardo, Vernáculo 3 geométricos en la cabeza, presentan de 9 a 14 radios en la aleta dorsal con una sola espina. Las aletas pectorales con gruesas espinas dentadas (Hoover et al., 2004; Nico & Martin, 2001)

Los plecostomus son adaptables, algunos son tolerantes a la salinidad y su gran estómago vascularizado funciona como pulmón, permitiéndoles respirar aire atmosférico en condiciones de hipoxina y resistir la desecación durante varios días. (Hoover et al. 2004, Mnedoza et al, 2007).

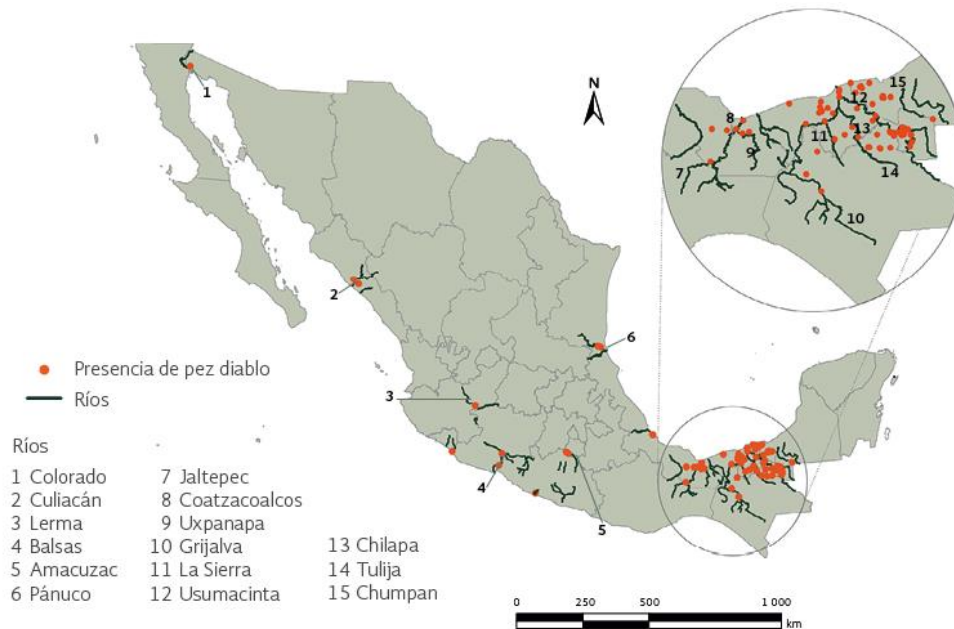
13.2 DISTRIBUCIÓN

En nuestro país, el primer reporte de la presencia en vida libre de este pez se realizó en 1995 en el río Mezcala, en la cuenca del río Balsas (Guzmán y Barragán, 1997). Posteriormente se registró en la presa de Infiernillo, Michoacán, en donde se le ha relacionado con graves consecuencias para la producción pesquera de tilapia (*Oreochromis aureus*; Mendoza et al., 2007). Las pérdidas brutas derivadas de la

presencia de pecos en dicha presa se calcula que fueron del orden de 13 millones de dólares en 2007 (Stabridis et al., 2009).

También se ha reportado su presencia en el estado de Chiapas, en las lagunas de Catazajá y de Medellín, y en Tabasco, en localidades cercanas a Villahermosa, principalmente en la proximidad del río Usumacinta y sus vertientes. En el Mapa a se muestran algunas de las localidades del país donde se ha reportado la presencia de estos peces.

Figura 3. Mapa; presencia de pez diablo en algunos ríos de México.



En su hábitat natural los pecos son depredados por cocodrilos, nutrias y algunos peces de mayor talla (Mendoza et al., 2007). En nuestro país no existen depredadores o competidores naturales que puedan controlar el tamaño y la distribución de sus poblaciones. Se ha sugerido, como una alternativa para el control de estos peces, su uso y aprovechamiento como alimento, tal y como ocurre en algunos países suramericanos (Ayala-Pérez et al., 2014). En este sentido, la Comisión Nacional de

Acuacultura y Pesca (Conapesca) entre otras entidades, así como comunidades locales, promueven la captura del pez diablo para el consumo humano o su utilización comercial en diversos sectores productivos del país.

13.3. REPRODUCCIÓN

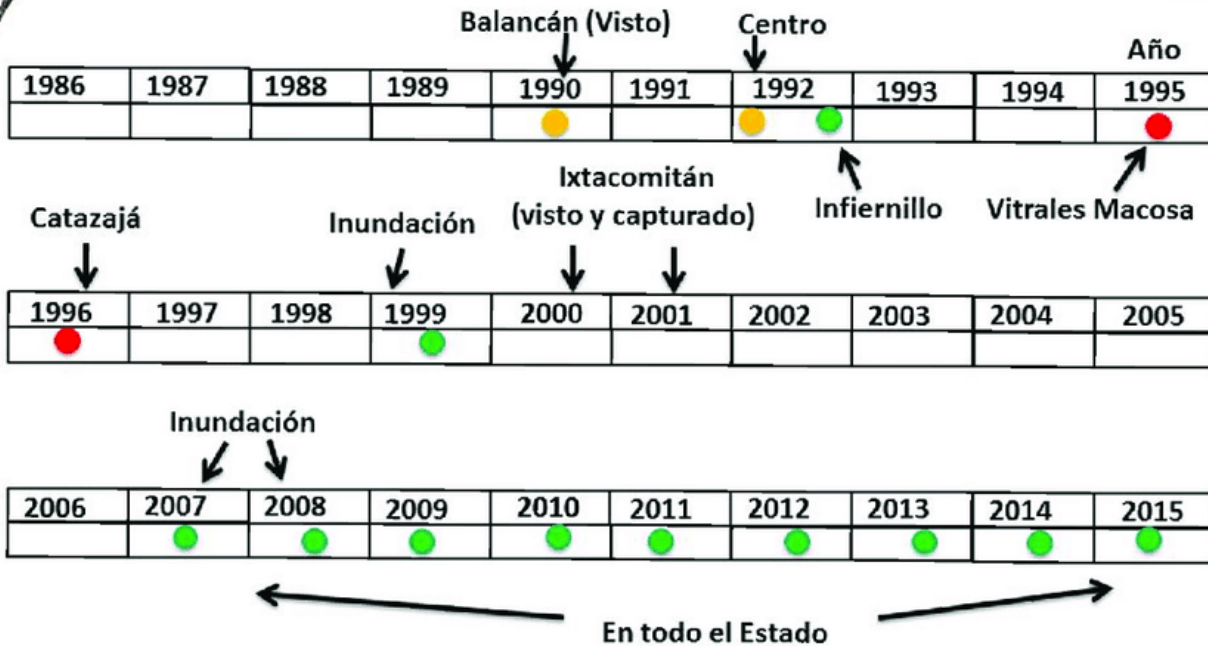
El Pez Diablo según los estudios sobre este pez no se han dado casos de reproducción en cautiverio pero en libertad el Diablo realiza todo un proceso para ello. Este proceso consiste en hacer una galería horizontal, es decir, huecos en las paredes en el cuerpo del agua, allí depositan sus huevos, normalmente donde suele haber tierra arcillosa. Una vez que la hembra desova los huevos allí, sale del escondite que previamente seleccionó el pez diablo macho. Después la hembra es echada de la zona ya que es el macho quien cuida de las crías o crías. Por este proceso es muy complicado que se pueda realizar en cautividad a no ser que la pecera sea de suelo.

En la figura 4. se observa la línea del tiempo, en variación del pez diablo a lo largo de los años.



Monitoreo poblacional del pez diablo en RBPC

Línea de tiempo, variación en la abundancia del pez diablo a lo largo de los años



Objetivo: Los participantes marcarán la variación de abundancias y disminución de pez diablo a lo largo de los años, con etiquetas de colores ● (baja), ● (media), y ● (alta). Así mismo se marcarán los principales acontecimientos climáticos de esos años (secas, lluvias, inundaciones, huracanes, etc).

Figura 5. Distribución en México de peces del genero (Amador del angel 2012)



Se ha reportado la presencia pez diablo en numerosas localidades de la parte baja de la cuenca Grijalva-Usumacinta (Ramírez-Soberón, 2004; Contreras-Balderas et al., 2006; Romero-Berny et al., 2006; Wakida-Kusonoki et al., 2007) y probablemente se ha dispersado hacia la parte alta de la cuenca. Los registros obtenidos sugieren que estos peces se han establecido con éxito en todos los cuerpos de agua de la zona norte de Chiapas (sistemas fluvio-lagunares de la planicie del Golfo en los municipios de Reforma, Pichucalco, Salto de Agua, Catazajá, Palenque y La Libertad) (figura 3.3. 2). De manera particular para el río Grijalva, se cuenta con registros marginales hasta la cortina de la presa Peñitas, lo que ha impedido su desplazamiento hacia el curso superior del río.

Cuadro 5. Principales localidades con presencia de *Hypostomus plecostomus* en México (carrió, 2014)

Localidad	Municipio	Estado
Cañon del Sumidero	Tuxtla Gutiérrez	Chiapas
La Libertad	La libertad	Chiapas
Laguna Saquila	Palenque	Chiapas
Palenque	Palenque	Chiapas
Playas de Catazajá	Playas de Catazajá	Chiapas
Río Chacamax	Palenque	Chiapas
Río Nututún	Palenque	Chiapas
Río Pichucalco	Pichucalco	Chiapas
Salto del Agua	Salto del Agua	Chiapas
Tecpatán	Tecpatán	Chiapas
Tulijá	Chilon	Chiapas
Bajo Amatitan	Jonuta	Tabasco
Balancán	Balancán	Tabasco
El Limonar	Balancán	Tabasco
Emiliano Zapata	Emiliano Zapata	Tabasco
Frontera	Centla	Tabasco

Jalapa	Jalapa	Tabasco
Laguna Suniná	Balancán	Tabasco
Laguna Chaschoc	Emiliano Zapata	Tabasco
Laguna Chinal	Balancán	Tabasco
Laguna Colorada	Balancán	Tabasco
Laguna de Julivá	Centla	Tabasco
Laguna de las Ilusiones	Centro	Tabasco
Laguna El Chinal	Jonuta	Tabasco
Laguna El Desague	Centro	Tabasco
Laguna El Guanál	Balancán	Tabasco
Laguna El Lechugal	Balancán	Tabasco
Laguna El Mangal	Balancán	Tabasco
Laguna El Manguito	Centro	Tabasco
Laguna El Pucté	Tenosique	Tabasco
Laguna El Sauzo	Jonuta	Tabasco
Laguna La Tomasita	Balancán	Tabasco
Laguna Leona Vicario	Balancán	Tabasco
Laguna Multé	Balancán	Tabasco
Laguna Nueva Esperanza	Emiliano Zapata	Tabasco
Laguna Popalillo	Balancán	Tabasco
Laguna San Pedrito	Centla	Tabasco
Laguna Santa Ana	Balancán	Tabasco
Laguna Tronconada	Centla	Tabasco
Macuspana	Macuspana	Tabasco
Nacajuca	Nacajuca	Tabasco
Oxicaque	Nacajuca	Tabasco
Río Samaria	Cunduacán	Tabasco
Río Santana	Cárdenas	Tabasco
San José del Río	Balancán	Tabasco
Tamulté de Las Sabanas	Centro	Tabasco
Tecoluta	Nacajuca	Tabasco
Tenosique	Tenosique	Tabasco
Torno Largo	Jonuta	Tabasco

13.3 ALIMENTACIÓN.

Se alimenta principalmente de plantas y detritus. Ingiere comida alta en materia orgánica total, proteína cruda y relación C:N y bajo contenido de materia orgánica resistente a la hidrólisis y cenizas (Yossa & Araujo-Lima, 1998). Pueden consumir también gusanos, larvas de insectos bentónicos, huevos de peces y otros habitantes de fondo pero la inmensa mayoría de su dieta se compone de detritos, algas, y material vegetal (Hill, 2001; Hoover et al., 2004; Nico & Martin, 2001; Mendoza et al., 2009).

13.4 LONGEVIDAD.

Pueden crecer más de 35 cm en los primeros dos años (Hoover et al., 2004). Regularmente alcanzan tallas de 40 cm (Nico & Martin, 2001). Los plecos desarrollados en acuarios pueden vivir más de 10 años (Hoover et al., 2004).

14 METODOLOGÍA

14.1. Obtención de la materia prima

Los peces *Hypostomus plecostomus* fueron obtenidos en Villahermosa en el estado de Tabasco, en agosto del 2018, en la laguna ubicado en Cuadrante II , Atasta de Serra 86100, Villahermosa, Tabasco.

Se colocaron y transportaron en hieleras térmicas a una temperatura de refrigeración para evitar su descomposición. Se procedió a separar manualmente los huesos y la piel del pez utilizando un cuchillo y bolsas ziploc para su posterior almacenamiento. La materia prima se seco en un horno por 24 horas a una temperatura de 60° C , luego se realizo un triturado con ayuda de una licuadora comercial y un molino de bolas, hasta obtener un tamaño de partícula óptimo de 0.8 mm con ayuda de un tamiz # 20 marca Mont – INOX. Para ser almacenados en bolsas ziploc hasta su utilización.



14.1 CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA

Se tomo como referencia la caracterización de muestras mediante análisis proximal, antes de la extracción de la proteína (María Yesenia Ruíz Aguilar, 2018).

14.2 Humedad

La humedad se determinó de acuerdo a la norma NMX-F-428-1982. Determinación de humedad (método rápido de la termobalanza) a 60°C durante 2 h. Se pesaron 3 g de muestra y se colocaron en un portaplatillo de aluminio, posteriormente se procedió a hacer la lectura.

14.3 Grasa

La determinación del extracto etéreo fue determinada de acuerdo a la norma NMX-F-089-S 1978. Determinación de extracto etéreo (metodo Soxhlet). Se peso 2.0 g de muestra y se colocó en un cartucho, el cual fue colocado dentro del matraz de extraccion Soxhlet y se añadio 100 ml de hexano. Se puso a reflujo durante 3 horas posteriormente se eliminó el disolvente y el matraz con la grasa extraída se llevo a peso constante.

Cálculos

$$\text{Extracto etéreo (\%)} = \frac{P-p}{M} \times 100$$

Donde:

P = Masa en gramos del matraz con grasa.

P = Masa en gramos del matraz sin grasa.

M = Masa en gramos de la muestra.

14.4 Proteína

Se llevó a cabo la determinación de proteína por el método de Kjeldhal (AOAC No. 928.08.1998), a partir de nitrógeno total utilizando un factor de 6.25. Se realizó la digestión de 1 g de muestra con ácido sulfúrico concentrado y para su destilación se adicionó 10 ml de NaOH al 40% (p/v). El destilado se recogió en solución de ácido bórico al 4% y se tituló con una solución valorada de H_2SO_4 .

Cálculos

$$\% \text{ Proteína} = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times \text{Factor}}{m \times 1000}$$

Donde:

V = Gasto NaOH 0.1 N ó gasto de HCl 0.1 N.

m = Masa de la muestra en gramos.

Factor = 6.25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general.

N = 0.1 N.

14.5 Cenizas totales

Se realizó por el método gravimétrico (AOAC No. 920.153,1998). Por diferencia de peso de 4 g de muestras, colocados en un crisol de porcelana peso constante, y el residuo después de la incineración en mufla a 550°C por 2 h y fue enfriando en el desecador para proceder a su pesado.

Cálculos

$$\% \text{ de ceniza} = \frac{P1 - P2 * 100}{P - P2}$$

Donde:

P = Peso del crisol más la muestra.

P1 = Peso del crisol.

P2 = Peso del crisol más cenizas.

15 PRETRATAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA

15.3.1. Eliminación de la proteína no colágena para piel y huesos.

Se peso 100 g de materia prima (huesos y piel), se disolvieron en NaOH 0.1 M durante 48 h en proporción 1:10 (p/v), con un cambio de solución de 24 h con el fin de eliminar las proteínas no colágenas y pigmento de piel, posteriormente se lavó con agua destilada hasta alcanzar pH neutro o ligeramente básico.

Los peces que se obtuvieron fueron caracterizados en una casa para obtener las pieles y los huesos, hasta obtener las muestras de la siguiente manera.

Se secaron las muestras durante 24 h en un horno, utilizando una temperatura de 60°C en promedio.

Luego de haber secado las muestras fueron trituradas en un molino de disco, un molino de bolas y lo que no se pudo triturar se paso finalmente por una licuadora comercial para obtener el triturado deseado.

La muestra se paso por un tamiz optimo de 0.8 mm, # 20 marca Mont-INOX.

Se peso 100 gr de harina de pescado tanto de huesos como piel; en este caso se peso 50 gr de piel, y 50 gr de huesos.

Se inicio el pretratamiento de la materia prima que consistia en eliminar proteínas no colágenas y eliminar el pigmento grisáceo en la piel, se realizaron los sig. Calculos.

NaOH = 0.1 M

Solución = 1000 mL

PM: NaOH = 40 gr / mol

M = 0.1 Mol / L

$$1000 \text{ mL} = 1 \text{ L}$$

$$M = \frac{\text{mol}}{L}; \quad \text{mol} = \frac{\text{gr}}{\text{pM}}$$

$$L \cdot M = \text{mol}$$

$$\text{Mol} = (1 \text{ L}) (0.1 \text{ mol} / \text{L}) = 0.1 \text{ mol}$$

$$\text{gr} = (\text{mol}) \cdot (\text{pM})$$

$$\text{gr} = (0.1 \text{ mol}) / (40 \text{ gr} / \text{mol}) = 4 \text{ gr.}$$

Por lo tanto se agregan 4 gr de NaOH y se afora a 1000 mL.

Hora de inicio = 3:20 pm lunes 29 octubre 2018

Segundo cambio = 3:20 pm martes 30 octubre 2018

Al hacer los cambios de disolución se filtro y se lavo 3 veces con agua destilada hasta obtener un pH neutro.

pH obtenido = 10 ligeramente básico.

15.3.2. Eliminación de grasa

Las muestras (huesos y piel) fueron desengrasadas con butanol al 10% en una proporción 1:10 (p/v) durante 48 h, con un cambio de disolvente a las 24 h, posteriormente se lavaron 3 veces con agua destilada (Benjakul,2010).

Cálculos:

Butanol 10% (v / v)

$$\frac{100 \%}{98 \%} \text{ puro}$$

90 ml de agua destilada + 10 ml de Butanol.

90 % → regla de 3.

90 ml – 10 ml = 80 ml de agua destilada + 20 ml butanol.. En caso de que no fuera un butanol al 10%.

15.3.3. Desmineralización de huesos

Después de eliminación de la proteína no colágena de los huesos, estos se desmineralizaron con una solución de EDTA en relación 1:10 durante 72 h con un cambio de solución a las 24 h, (posteriormente se lavarón con agua destilada 3 veces (El-Rashidy,2015). Se hizo una desmineralización de huesos con sal EDTA

Relación 1:10 con 72 hrs con cambio de solución cada 24 h

EDTA = 0.1 M

PM EDTA = 292.24 g / mol

MI = 0.1 mol / L

MI = 1000 ml = 1L

gr = (0.1 mol) *(292.24 g/ mol) = 29.224 gr

por lo tanto pesar 29.224 gr de sal EDTA y aforar a 1000 ml.

16 EXTRACCIÓN DE COLÁGENO

16.1. Colágeno soluble en ácido (CSA)

Las muestras pretratadas se solubilizarón con ácido acetico 0.5 M en una relación de 1:15 (p/v) durante 24 h. La mezcla se filtró y el filtrado se centrifugó con una centrifuga modelo OHS-30130869 FRONTIER FALCON, a 4000 rpm a 4°C durante 20 min, y se redisolvió en ácido acetico 0.5 M en una proporción 1:15 (p/v). Posteriormente se liofilizó con una liofilizadora Labconco 0.520 mBar 4°C y se almaceno a 4°C hasta su uso. (Zeng, 2012).

Por último se hizo la extracción de colágeno soluble en ácido utilizando, Ácido acético.

60 % >>>>> solución 1000 ml

Ácido acético = 0.5 M

$$M = \frac{mol}{L}; \quad mol = \frac{gr}{pM}$$

$$pM = 60.05 \text{ gr / mol} = 60 \text{ gr / mol}$$

$$LM = mol$$

$$(1 \text{ L}) * (0.5) = 0.5 \text{ Mol}$$

$$(pM) * (mol) = gr$$

$$(60 \text{ gr / mol}) * (0.5) = 30 \text{ gr ácido acético.}$$

$$\text{Densidad} = \frac{m}{v} = 1.05 \text{ gr/ ml}$$

$$V\rho = m$$

$$V = m / \rho$$

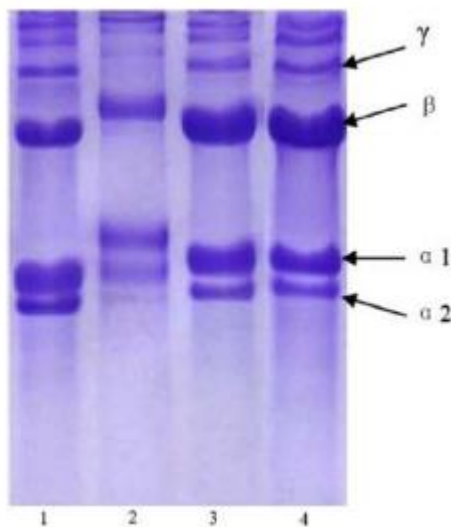
$$V = 30\text{gr} / 1.05 \text{ gr/ml} = 28.6 \text{ MI de ácido acético y aforar a 1000 ml.}$$

17 CARACTERIZACIÓN BIQUÍMICA DEL COLÁGENO

17.1. Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

Por último se encuentran las pruebas de caracterización. Primero se asegura que el producto obtenido es colágeno tipo I comparándolo con patrones de alto peso molecular mediante la técnica de electroforesis, que se define como el movimiento de partículas cargadas en un campo eléctrico. La movilidad de las partículas está determinada de forma proporcional al voltaje aplicado y la carga neta de la molécula y de forma inversamente proporcional a la fricción de la molécula; esta última depende de la forma y el tamaño de la misma.

FIGURA 4. Gel de electroforesis (SDS-Poliacrilamida) con muestras de colágeno de diferentes fuentes.



Colágeno de bacalao (1), becerro (2), carpa plateada (3) y de carpa común (4). Tomado del reporte de (Zhang et al. 2009).

El patrón de SDS-PAGE muestra que el colágeno consiste en cadenas α , su regulador de voltaje (cadena β), y pequeñas cantidades de un componente γ . Todos los colágenos están compuestos por lo menos de dos diferentes cadenas α , α_1 y α_2 , y la densidad de α_1 es mayor que la de α_2 . Se puede observar que los pesos moleculares de las subunidades (cadenas α_1 , α_2 y β) del colágeno de piel de carpa son mayores que los del colágeno extraído de piel de becerro. Una gran cantidad de cadenas β pudo verse en todos los 21 colágenos, esto significa que los colágenos son ricos en inter e intra-enlaces moleculares (Zhang et al. 2009).

17.1 Espectrometría Infrarroja

Para la obtención de los espectros de los extractos proteicos, fueron realizados con una espectro de IR marca Thermo modelo Nicolet. Los espectros se adquirieron en un intervalo de 650-4000 cm^{-1} .

17.2 Espectroscopia de UV

Las muestras de extracto proteico se disolvieron en una solución de ácido acético 0.5 M en una relación 1:100 (p/v). Posteriormente, las soluciones se colocaron en una celda de cuarzo de 1 cm y se realizó un barrido espectral de 190-1100 nm para identificar la longitud de onda de máxima absorción con un espectrofotómetro marca HACH modelo DR 5000.

17.3 Cuantificación de extracto proteico

Para determinar la concentración de proteína por el método Bradford (1976), se realizó una curva patrón utilizando BSA (albúmina de suero bovino). Posteriormente se colocó 2 ml de muestra y se adicionó 2 ml de reactivo Bradford y se realizó una lectura con un espectrofotómetro marca HACH modelo DR 5000 a 595 nm.

17.4 Efecto del NaCl sobre la solubilidad

Una solución de colágeno con ácido acético 0.5 M (6mg/mL) se mezcló con 5 ml de NaCl, para después obtener concentraciones finales de 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% y 6%. La mezcla se agitó continuamente a 4°C por 30 min, seguido de una centrifugación a 1400 rpm durante 30 min a 4°C. El contenido de proteína en el sobrenadante (Y) se cuantificó por el método de Bradford (Motta, 2016) y se gráfica contra la concentración de NaCl (X).

17.5 Efecto del pH sobre la solubilidad

De acuerdo a la metodología de Benjakul, 2011 se preparó una solución de 3 mg de colágeno liofilizado disueltos en 50 ml de ácido acético 0.5 M, la solución se centrifugó en una centrifuga marca eppendorf modelo 5810R a 1400 rpm durante 30 min a 4°C. Del sobrenadante se tomaron 10 ml y se ajustó el pH con NaOH 6 N ó HCl 6 N para obtener soluciones con pH final que varía de 1 a 10. El contenido de proteínas totales en los sobrenadantes se determinó por medio el ensayo de proteína Brandford (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) para la obtención de una curva estándar. La solubilidad relativa de las muestras de colágeno se calculó como un porcentaje del colágeno total en solución de ácido acético 0.5 m.

17.6 Formulación de películas

La elaboración de películas a base de colageno se realizó mediante el diseño adecuado de gelificación.

En el diseño factorial 3³ completamente aleatorizado, se empleó colágeno (0.3%, 0.5%, 0.7%) goma arábica, goma xantana y maltodextrina (1.3%, 1.5%, 1.7%) y glicerol (0.3%, 0.5%, 0.7%) como agente plastificante, la goma fue hidratada 24 h antes de elaborar las películas, se disolvió el colágeno en agua destilada y por último se le agregó glicerol con una agitación de 600 rpm con un agitador ULTRA-TURRAX IKA-T25 la solución se vertió en cajas petri con un volumen de 20 ml y se dejo gelificar a temperatura ambiente durante 7 días.

18 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

18.1. Análisis proximal de la materia prima

Se reporta que el porcentaje de proteína es bajo (47.9%) y el de ceniza es alto (34.7%) para ser pescado y la capacidad de ser digerido es de sólo el 75% a consecuencia del alto contenido de ceniza. El pez diablo completo no cubre con las especificaciones establecidas en la norma NMX-Y-013-1998-SCFI que corresponde a ingredientes para alimentos para animales, donde se menciona que las proteínas deben representar un mínimo del 62% y la ceniza no debe ser superior a 16% (Cuadro 5).

Componente	Porcentaje
Humedad	1.14%
Cenizas	34.7 %
Grasas	12.13 %
Proteína	47.9 %
Carbohidratos	4.10 %
Total	100 %

Cuadro 5. Composición química global del pez diablo (*Pterygoplichthys* sp.) (Escalera et al., 2012).

Cuadro 6. Análisis bromatológico de las diferentes partes el cuerpo del pez diablo (Pterygoplichthys sp) en base seca, en porcentaje (Escalera et al., 2012).

Componentes principales	Cabeza	Piel	Vísceras	Esqueleto	Músculo
Humedad	1.39	1.12	1.055	1.085	1.09
Cenizas	40.37	43.83	46.05	36.72	6.91
Grasa	24.82	9.83	17.43	11.24	7.33
Proteínas	40.09	42.20	24.47	47.78	85.09
Carbohidratos	3.33	3.02	11	3.19	0
TOTAL	100	100	100	100	100

Como se puede observar, el contenido de ceniza en los huesos es mayor que en la piel, esto se debe a que el hueso está formado mayoritariamente de carbono y fosfato de calcio, lo que permite formar estructuras firmes que generan diversas cavidades que protegen a los órganos vitales de posible traumatismos, sostener a los órganos y tejidos blandos, además de que gracias a los músculos que se fijan a los huesos a través de los tendones, y a sus contracciones sincronizadas, el cuerpo se puede mover. (María Yesenia Ruíz Aguilar, 2018).

Con relación al contenido de grasa, el hueso contuvo la mayor en comparación con la piel debido a que como menciona Lin en 2011, el tejido óseo contiene a la médula ósea que actúa como reservorio de ácidos grasos, importantes para la homeostasis energética, contiene tejido hematopéyico y hormonas (estructuras lipídicas) como la osteocalcina, que contribuye a la regulación de glucosa en la sangre y la deposición de grasa.

18.1 CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA

Después de estandarizar el método de extracción se procedió a la cuantificación de proteínas totales por el método de Bradford, obteniendo la curva patrón con albúmina bovina.

Determinación ($\mu\text{g/mL}$)	Promedio ABS 595nm
0.1	0.470
0.3	0.489
0.5	0.511
0.8	0.563
1.0	0.600
1.3	0.630
1.5	0.667
1.8	0.744
2.0	0.783

Tabla 2. Resultados de la cuantificación de proteínas para la curva patrón por método de Bradford.

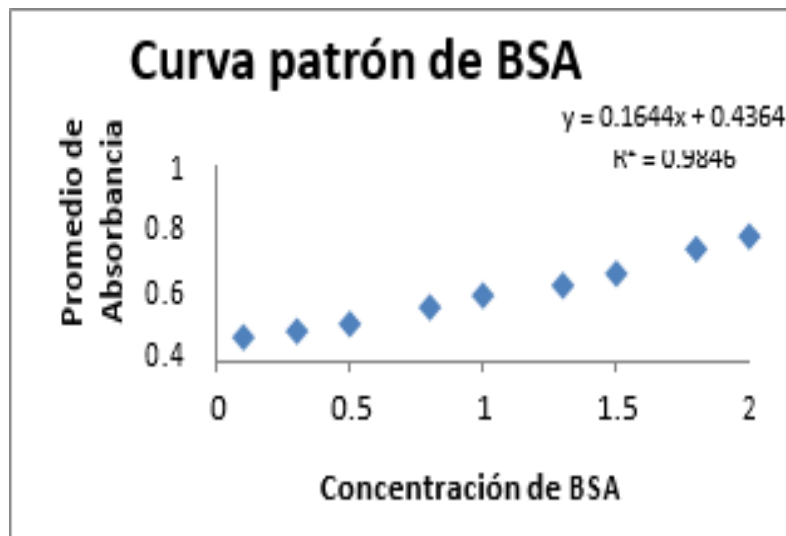


Figura 4. Curva patrón de albúmina.

Con base a la curva patrón se utilizó la ecuación de la recta para llegar a la concentración de las muestras, esto es modificando la ecuación de tal forma que

$$x = ((Y \text{ Absorbancia promedio}) - 0.4364) / 0.1644$$

La R2 que se obtuvo en la curva patrón

fue de 0.9846 siendo un resultado confiable a partir de 0.9800.

Por otra parte, la cantidad de proteína resultante en la muestra de colágeno fue de 0.495mg/mL (tabla 2), siendo una cantidad baja comparada con otros estudios, los cuales reportan una cantidad de proteína de 0.7mg/mL (Serrano, 2011; Gómez, 2011; Torres, 2008).

Lo cual se puede atribuir al hecho de que no se trabaja con la misma especie animal; además que el colágeno presente en las estructuras animales puede variar según sea la especie o bien el género del animal.

Muestra	Colágeno sólido	Prom Abs	(mg/mL)
Colágeno	0.25 g/ ImL	0.484	0.288
	0.50 g/ ImL	0.488	0.315
	1 g/ ImL	0.518	0.495
	0.25 g/ ImL	0.465	0.170
	0.50 g/ ImL	0.502	0.400
	1 g/ ImL	0.489	0.319
	0.25 g/ ImL	0.512	0.461
	0.50 g/ ImL	0.478	0.250
	1 g/ ImL	0.463	0.158

Marcador de Rata	0.3 µg/ 75 µL	0.490	0.325
Marcador de cerdo	0.5 µg/ 100 µL	0.498	0.374

Tabla 3. Cuantificación de proteínas a muestras de colágeno en solución ácida. Concentraciones marcadas son detectables en electroforesis.

18.3 RENDIMIENTO DE EXTRACTO CRUDO OBTENIDO A PARTIR DEL MÉTODO CSA Y CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA.

Después de la caracterización de la materia prima, se realizaron las extracciones con los el tratamiento descrito en la metodología.

Cuadro 5 . Rendimiento de extracto crudo obtenido por los métodos de extracción en piel.

Método	Rendimiento piel (Extracción crudo %)
CSA	31.15 ± 0.91a

Cuadro 6. Rendimiento de extracto crudo obtenido por los métodos de extracción en huesos.

Método	Rendimiento huesos (Extracción crudo %)
CSA	11.13 ± 0.92

19 VERIFICACIÓN DE LA EXTRACCIÓN

Al término de la corrida electroforética se pueden observar tres bandas por carril en las muestras y en los marcadores comerciales de colágeno a partir de rata y de cerdo, de alto peso molecular (Figura 5).

Los carriles correspondientes a “Rata Comercial” y “Cerdo Comercial” muestran los marcadores comerciales de colágeno obtenido de cerdo y rata mostrando las mismas bandas por carril entre ambas muestras comerciales.

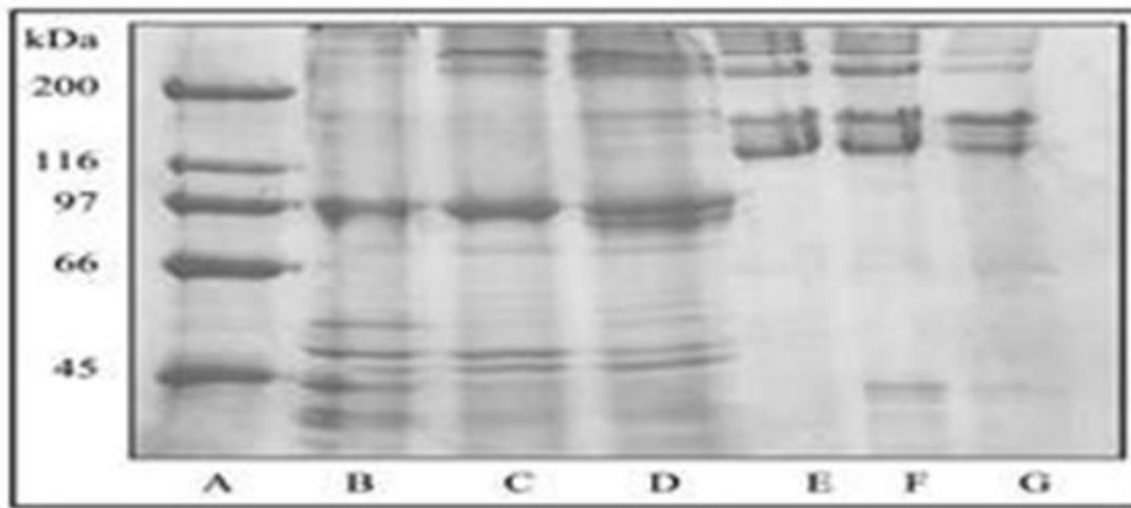


Figura 5. Electroforesis en gel de SDS- poliacilamida en condiciones desnaturizantes del colágeno extraído de calamar gigante. Carril A: marcador de peso molecular. B: colágeno soluble en sal extraído de manto. C : colágeno soluble en sal extraído de aleta. D : colágeno soluble en sal extraído de tentáculos. E: colágeno soluble en pepsina extrído de mantO. F : colágeno soluble en pepsina extrído de aleta. G : colágeno soluble en pepsina extrído de tetáculos. (fuente Torres et al, 2008).

Los carriles correspondientes a las muestras 1, 2 y 3 fueron muestras extraídas en diferentes días, por el protocolo establecido en la presente investigación, las cuales presentan similitudes en las bandas de ambas muestras con las de las muestras de colágeno comercial rata y cerdo.

El carril correspondiente a la albúmina bovina se trata de una concentración conocida para corroborar que la técnica se realizó de la manera correcta. Con ayuda del análisis bibliográfico se hizo una comparación entre bandas y geles de poliacrilamida correspondientes a colágeno.

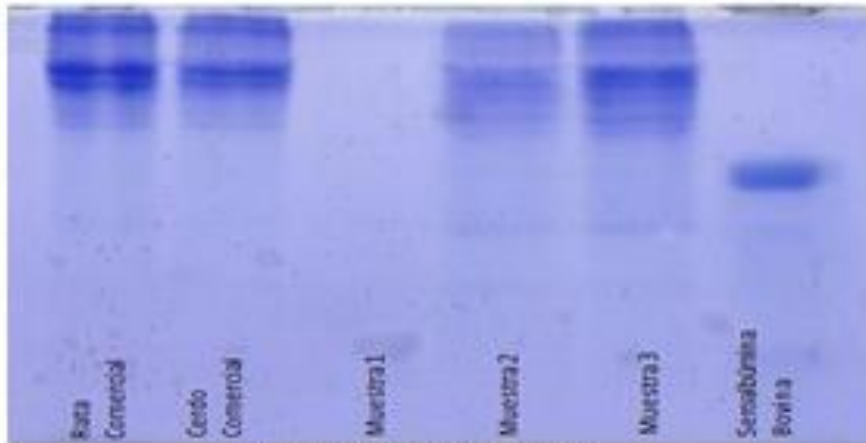


Figura 6. Electroforesis SDS-PAGE con colágeno comercial y muestras de colágeno.

En el protocolo de extracción de colágeno de Torres, et al., (2008) reporta como resultado en su gel de poliacrilamida, dos bandas α de alto peso molecular en las bandas B,C,D,E,F Y G señaladas en la Figura 2, las cuales son características del colágeno; esta información concuerda también con la información del estudio de Serrano (2011).

NOTA: Los demás resultados de las corridas espectrales y la formulación de películas, quedaron inconclusas a realizar debido a que el equipo en el Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez no está en condiciones para poder operar, de igual forma a falta de reactivos a utilizar y el tiempo en que estos resultados saldrían.

20 CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron las fracciones proteicas de hueso y piel de pez diablo (*Hypostomus plecostomus*), con base al método de extracción soluble en ácido, siendo un método con un buen rendimiento.
2. De acuerdo al tamaño molecular mediante un análisis SDS-PAGE, fisicoquímicos, el colágeno obtenido por el método CSA (colágeno soluble en ácido).
3. Con estos resultados, se mostró que *Hypostomus plecostomus* es una fuente alternativa de colágeno, el cual puede tener diversas aplicaciones, en la industria farmacéutica y/o cosmética. Para poder reducir un poco su población invasora.
4. Las películas de colágeno no se pudieron elaborar a base de que estábamos carentes de reactivos y algún que otro material para poder realizarlo.

21 BIBLIOGRAFÍA

- Armbruster, J.W. and L.M. Page, 2006. Redescription of *Pterygoplichthys punctatus* and description of a new species of *Pterygoplichthys* (Siluriformes: Loricariidae). *Neotrop. Ichthyol.* 4(4):401-409.
- Ayala-Pérez L.A., A.D. Pineda-Peralta, H. Álvarez-Guillén y L.E. Amador-del Ángel. El pez diablo (*Pterygoplichthys* spp.) en las cabeceras estuarinas de la Laguna de Términos, Campeche. En: Low-Pfeng, A.M., P.A. Quijón y E.M. Peters-Recagno (Eds.). *Especies invasoras acuáticas: casos de estudio en ecosistemas de México*. Semarnat, INECC, UPEI. México. 2014.
- Bae, I., Osatomi, K. y otros autores, Biochemical properties of acid-soluble collagens extracted from the skins of underutilised fishes, doi:[10.1016/j.foodchem.2007.10.039](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.039), *Food Chemistry*, 108(1), 49-54, (2008).
- Belitz, H. D. G., W. . 1999. *Food Chemistry* . 2nd ed. Berlin, Germany Springer-Verlag. Bjarnason, A. B. 1989. Squid Fishing. *INFOFISH Intl.* 2(89)::38-40.
- Benjakul, S, (2009). Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*).
- Bitar, M., V. Salih, et al. (2007). "Effect of multiple unconfined compression on cellular dense collagen scaffolds for bone tissue engineering." *J Mater Sci: Mater Med*18: 237–244.

Carrió, D. E.(2014) Informe final SNB-CONABIO Ficha técnica pez diablo. *Pterygopllichtys pardalis*, proyecto No. GN004 México D.F. Universidad Autónoma del Carmen.

Dasong Lui, G.W. (4 septiembre 2014). Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acidsoluble from grass carp. (*ctenopharyngodon idella*) skin. Food Chemistry.

Dasong Lui, G.W. (4 septiembre 2014). Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acidsoluble from grass carp. (*ctenopharyngodon idella*) skin. Food Chemistry.

Espe, M , T. Hagenes, y K.E. Gulbrandsen.2003.Age of farmed Atlantic salmon at seawater transfer affects muscle collagen content and solubility at havest. Journal of Food Science 68 (5): 1814-1817.

Feinstein, G. R., y E. M. Buck. 1984. Relationship of Texture to Ph and Collagen Content of Yellowtail Flounder and Cusk. Journal of Food Science. 49 (1):298-299.

Fennema, O. 2002. Química de los Alimentos. 2da ed. España: Acribia.

Fratzl, P. 2008. Collagen structure and mechanics. New York: Springer Science+Business Media,LLC.

El- Rashidy, c, A. (2015) **Chemical and biological evaluation of Egyptian Nile Tilapia (*Oreochromis niloticas*) fish scale collagen.** International Journal of Biological Macromolecules, 618-626.

Escalera, C. & Arroyo, M. 2012. Caracterización fisicoquímica y alternativas de utilización del *Plecostomus* spp. en la presa El Infiernillo. Informe Final. INP-CIIDIR Michoacán. 33 p

Escalera, C. y M. Arroyo (2006). Caracterización fisicoquímica y alternativas de utilización del Plecos spp.. En la presa El Infiernillo. Informe Final. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR Michoacán .

Gelse, K., E. Pöschl, et al. (2003). "Collagens - structure, function, and biosynthesis." *Advanced Drug Delivery Reviews* 55: 1531 - 1546.

González Tuero, J., R. Rodríguez Ramírez, et al. (2004). "Heridas. Métodos de tratamiento." Retrieved 4 de abril, 2011, from http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol8_1_04/san07104.htm.

Guzmán A. F. y S. J. Barragán. 1997. Presencia de bagres sudamericanos (Osteichthyes: Loricariidae) en el río Mezcala, Guerrero, México. *Vertebrata Mexicana*. : 1 - 4.

Gaona, J. C. (2012). Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*).

Gómez, L. 2011. Obtención y caracterización de colágena tipo 1 a partir de tendón bovino. Instituto de Investigaciones en Materiales, Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Huang, C., Kuo, J. y otros autores, Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis sp.*) by a novel extrusion hydro extraction process. *Food chemistry*, 190, 997-1006, (2016).

Haard, N. 1995. Composition and Nutritive Value of Fish Proteins and Others Nitrogen Compounds In *Fish and Fishery Products Composition ,Nutritive Properties and Stability*. edited by A. Ruiter: CAB International.

Hoover, J.J., K.J. Killgore, and A.F. Cofrancesco. 2004. Suckermouth catfishes: Threats to aquatic ecosystems of the United States? Aquatic Nuisance Species Research Program Bulletin Volume 4-1.

Hill, J. 2001. Native and Exotic Catfish in Florida part II. University of Florida Cooperative Extensions Service/ Institute of Food and Agricultural Sciences 5 (2): 6-7.

Hoover, J.J., K.J. Killgore, and A.F. Cofrancesco. 2004. Suckermouth catfishes: Threats to aquatic ecosystems of the United States? Aquatic Nuisance Species Research Program Bulletin Volume 4-1.

M.a ANTONIA LIZARBE IRACHETA (2010). el colágeno, ¿un cemento biológico que mantiene la arquitectura y plasticidad tisular? real academia de ciencias.

Karim, A. A. and R. Bhat (2009). "Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins." Food Hydrocolloids23: 563-576.

Lu, Q., K. Ganesan, et al. (2004). "Novel porous aortic elastin and collagen scaffolds for tissue engineering." Biomaterials25: 5227-5237.

Lehninger, A. L., D. L. Nelson, y M. M. Cox. 1995.Principios de Bioquímica. 2da ed. Barcelona,España: Omega.

Lodish H, Berk A, Zipursky SL, et al. Molecular Cell Biology. 4th edition. New York: Freeman W. H.; 2000. Section 22.3, Collagen: The Fibrous Proteins of the Matrix. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21582/> 8/Junio/2016.

Muyonga, J. H., C. G. B. Cole, et al. (2004). "Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*)." Food Chemistry.85: 81- 89.

Muyonga, J. H., C. G. B. Cole, et al. (2004). "Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*)."
Food Chemistry.85: 81- 89.

Mathews, C., K. van Holde, et al. (2002). Bioquímica. Madrid, Pearson Educación, S.A.

Mendoza R., S. Contreras, C. Ramírez, P. Koleff, P. Álvarez y V. Aguilar, 2007. los peces diablo, especies invasoras de alto impacto. biodiversitas 70:1-15.

Mendoza, R., S. Contreras, C. Ramírez, P. Koleff, P. Álvarez y V. Aguilar. 2007. Los peces diablo: especies invasoras de alto impacto. CONABIO. Biodiversitas 70:1-5

Motta, A. (2016).Evaluation of alternative sources of collagen fractions from *Loligo vulgaris* squid mantle. Journal of biological Macromolecules, 504- 513.

Nagai, T. and T. Suzuki (1999). "Isolation of collagen from fish waste material: (skin, bone and fins)."
Food Chemistry68: 277-281.

Nico, L. G. and R. T. Martin. 2001. The South American armored catfish, *Pterygoplichthys anisitsi* (Pisces: Loricariidae), in Texas, with comments on foreign fish introductions in the American Southwest. The Southwestern Naturalist 46 (1) 98-104.

Potaros, T., N. Raksakulthai, et al. (2009). "Characteristics of collagen from Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin isolated by two different methods." Kasetart Journal43: 584-593.

Ramírez-Soberón, Valencia Díaz, X. y Gaspar-Dillanes, M. T. 2004. Nuevo registro de los bagres sudamericanos *Liposarcus multiradiatus* y *L. spp.* (Osteichthyes: Loricariidae) Introducidos en las Lagunas de Catazajá y Medellín, Chiapas. Resúmenes del IX Congreso Nacional de Ictiología. 13 – 16 de Septiembre del 2004.

RAMÍREZ-SOBERÓN G., X. VALENCIA-DÍAZ Y M. T. GASPAR-DILLANES, 2004. Nuevo registro de bagres sudamericanos *Liposarcus multiradiatus* y *L. spp.* en las lagunas de Catuzajá y Medellín, Chiapas. Memorias del IX Congreso Nacional de Ictiología. Villahermosa, Tabasco, México.

Serrano J. (2011) Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachipomus*). Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería, Área Curricular de Ingeniería Química y Ambiental Bogotá D.C., Colombia.

Sadowska, M., I. Kolodziejska, et al. (2003). "Isolation of collagen from the skins of Baltic cod (*Gadus morhua*)." *Food Chemistry*81(2): 257-262.

Sato, K., K. Yomogida, et al. (2002). "Type XXVI collagen, a new member of the collagen family, is specifically expressed in the testis and ovary." *The journal of biological chemistry*277(4): 37678-37684.

Sato, K., R. Yoshinaka, Y. Itoh, y M. Sato. 1989. Molecular-Species of Collagen in the Intramuscular Connective-Tissue of Fish. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 92 (1):87-91

Schoof, H., J. Apel, et al. (2001). "Control of Pore Structure and Size in Freeze-Dried Collagen Sponges." *Journal of Biomedical Materials Research*58(4): 352-357.

Senaratne, L., P. Park, et al. (2006). "Isolation and characterization of collagen from brown backed toadfish (*Lagocephalus gloveri*) skin." *Bioresource technology*97: 191-197.

Sikorski, Z. 2001. *Chemical and Functional Properties of Food Proteins*. Technomic Publishing., 490 pp.

Tiempos médicos (septiembre 1981). El colágeno.

Tang, L., Chen, S., Su, W. y otros autores , Physicochemical properties and film-forming ability of fish skin collagen extracted from different freshwater species. *Process Biochemistry*, 50(1), 148-155, (2015) .

Torres A., W., Pacheco, R. y otros autores, Caracterización parcial del colágeno extraído a partir del manto, aleta y tentáculos de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) partial characterization of collagen from mantle, fin, and arms of jumbo squid (*Dosidicus gigas*). *CYTA-Journal of Food*, 6(2), 101-108, (2008).

Wang , L., X. An, et al. (2008). "Isolation and characterisation of collagens from the skin, scale and bone of deep-sea redfish (*Sebaste mentella*)." *Food Chemistry*108(2): 616-623.

Woo, J. W., S. J. Yu, et al. (2008). "Extraction optimization and properties of collagen from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) dorsal skin." *Food Hydrocolloids*22(5): 879-887.

Zeng, S., C. Zhang, et al. (2009). "Isolation and characterisation of acid-solubilised collagen from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)." *Food Chemistry*116(2): 879-883.

Zhang, J., R. Duan, et al. (2009). "Characterisation of acid-soluble collagen from skin of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)." *Food Chemistry*2009: 318-322.

Zhang, M., W. Liu, et al. (2009). "Isolation and characterisation of collagens from the skin of largefin longbarbel catfish (*Mystus macropterus*)." *Food Chemistry*115: 826- 831.

Zhang, Y., W. Liu, et al. (2007). "Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)." *Food Chemistry*103: 906-912.

Yossa, M. I. and C. A. R .M. Araujo-Lima 1998 Detritivory in two Amazonian fish species. *J. Fish Biol.* 52:1141-1153.

Yoshimura, K., M. Terashima, D. Hozan, y K. Shirai. 2000. Preparation and dynamic viscoelasticity characterization of alkali-solubilized collagen from shark skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (3):685-690.

ANEXOS



